

Über Mikrobenbestand und Nährstoff-Verhältnisse in
einem oberbayerischen Moorprofil (Hoch- und Flachmoor)

Robert RÖSCHENTHALER

Über Mikrobenbestand und Nährstoff-Verhältnisse in
einem oberbayerischen Moorprofil (Hoch- und Flachmoor)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Robert RÖSCHENTHALER
aus
Haberspirk
(Egerland/CSR)



Juni 1957

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Morphologie und Stratigraphie der Moore zwischen Seeshaupt und Staltach	2
Charakterisierung des Moorprofils	4
Die zahlenmässige Verteilung der Bakterien im Torfprofil	5
Die Atmungsintensität der im Torf lebenden Mikro- organismen in Abhängigkeit vom Profil	8
Untersuchung und Bestimmung der aus dem Torfpro- fil isolierten Kolonien	9
1. Die mikroskopisch bestimmbaren Merkmale der Mikroben	11
2. Die kulturelle Charakterisierung	11
3. Die physiologische Charakterisierung	12
a) Das Verhalten der Bakterien gegenüber Kohlehydrat-Indikator-Nährmedien	12
b) Die Nitritbildung aus Nitrat	13
c) Das Verhalten gegenüber Lackmuskmilch	14
d) Die Verflüssigung von Gelatine	15
e) Die Bildung von Schwefelwasserstoff	15
f) Die Bildung von Indol	16
g) Das Wachstum in einem Nährmedium mit se- kundären Ammoniumphosphat als einziger Stickstoffquelle	16
h) Die Bildung von Ammoniak	16
i) Das Verhalten zum Luftsauerstoff	17
j) Die Hydrolyse von Stärke	17
k) Das Fluoreszenzvermögen	17
l) Das Wachstum in Aminosäure-Nährlösung	18
m) Das Wachstum in 1 %igem Peptonwasser	19
Die systematische Stellung der einzelnen Stämme	19
Übersicht über die Eigenschaften der einzelnen Arten	20

Die Profilabhängigkeit der antiechtenen Sulfurierungs- gesellschaften	29
Die Verwertbarkeit einiger Aminosäuren durch die isolierten Bakterienstämme	32
Die Untersuchung der im Torfprofil vorhandenen freien Aminosäuren	35
1. Ermittlung einer geeigneten Methode	36
a) Eindimensionale Chromatographie	37
b) Ringchromatographie	37
c) Durchlaufchromatographie	38
d) Zweidimensionale Chromatographie	39
2. Die Identifizierung der isolierten Amino- säuren	40
3. Ergebnisse	40
Die qualitative Analyse der im Torf gebundenen, durch Hydrolyse frei werdenden Aminosäuren und ihrer Abhängigkeit vom Profil	43
Ergebnisse	45
Die Schätzung der Aminosäurenverteilung in Ab- hängigkeit vom Profil	49
Diskussion der Ergebnisse	53
Zusammenfassung	55
Literaturverzeichnis	58

E i n l e i t u n g

Die Moore stellen in ihrer physikalischen und chemischen Zusammensetzung ein sehr komplexes Ergebnis aus vielseitiger biologischen Umsetzungen dar. Im allgemeinen wird in der Literatur das Moor als eine Torf führende Landschaftsform bezeichnet. Der Torf ist dann geologisch gesehen, als "Gestein der Moore" aufzufassen.

Entsprechend seiner Entstehung ist der Torf in den verschiedenen Profilschichten aus mannigfaltigen pflanzlichen Überresten zusammengesetzt. So werden im Hochmoor vorwiegend Sphagnum-, Eriophorum-, Polytrichum- und, je nach Feuchtigkeitsverhältnissen, Ericaceenarten gefunden. Das Flecht- oder Niedermoor hingegen wird meist von Braunerwaasern wie *Adiantum*-, *Comptelasma*-, *Scorpidium*-, *Chrysobryum*- und *Hypnum*-arten, sowie von Carex-, Phragmites-, Equisetum- und Moliniaarten beherrscht. Wie viele extreme Standorte, so weisen auch die Moore in ihrer pflanzlichen Zusammensetzung, im allgemeinen Artenarmut bei Individuenreichtum auf.

Lange Zeit herrschte die Ansicht, dass der Torf steril sei, ja sogar keimtötende Fähigkeiten besitze. Diese vermutete Sterilität führte man vor allem auf saure, bakterienstatisch oder bakterizid wirkende Verbindungen im Torf sowie auf dessen Nährstoffarmut zurück.

Bereits schon GARY (1882) das Vorhandensein von Bakterien im Torf nachgewiesen hatte, PROSSAUER (1882), CIRIARD (1892), LUNNI (1896), STALLERMAN (1898) und andere Gees Befunde bestätigten konnten, ließ die Hypothese, dass der Torf steril sei bis in die Neuzeit zahlreiche Anhänger. So lehnt auch ZOLNISKY 1930 jegliche bakterielle Aktivität im Torf ab.

Durch eingehende Untersuchungen vor allem von WILSON und seinen Mitarbeitern wissen wir heute, dass die Bakterienflora des Torfs wesentlich an dessen Bildung beteiligt ist und wir dürfen wohl der Ansicht von KENADE zustimmen, dass vor allem die ersten Stadien der Verrottung mikrobieller Natur sind.

Da über die Anzahl und Arten, ferner über die physiologisch-biochemischen Fähigkeiten der Torfmikroben sowie über die im Torf bestehenden Möglichkeiten für biochemische Umsetzungen in den oberbayerischen Mooren nur sehr wenig bekannt ist, stellte ich mir die Aufgabe, die Mikroflora eines Moorprofils, das sowohl Hochmoor- als auch Niedermoorortorf enthielt, zu untersuchen und dabei deren zahlen- und artenmässige Verteilung in den verschiedenen Torfschichten zu studieren. Da ein grosser Teil der gefundenen Bakterienarten zu den Eiweisszersettern gehört, interessierte weiterhin die Frage, ob im Torfe auch Aminosäuren vorkommen und bis zu welchem Grade diese von den gefundenen Torfbakterien als Nährstoffquelle verwertet werden können.

Morphologie und Stratigraphie der Moore zwischen Seeshaupt und Staltach *)

Südlich des Starnberger- (oder Wurm)-Sees erstreckt sich zwischen Seeshaupt und Staltach eine Anzahl von Moorbildungen, die in gewissem Sinne als Teile eines Hochmoorkomplexes anzusehen sind, der von einer Külle (dem Totensee) durchflossen wird. Die Seeshaupter Moore liegen in der Stammsenkung des ehemaligen Starnberger Gletschers. Im Nordwesten und Westen werden sie von Schotterterrassen begrenzt, im Süden durch die Ausläufer der Murenbacher Molasse des Wolfratshausener Gletschers bei Unter-Furach und im Osten durch die vertikalen Hänge des Fischberges. Im Westen besteht ein Zusammenhang mit den verkarsteten Flächen der nördlichen Unterseen. Die Entstehungsweise aller dieser Moorbildungen ist sehr kompliziert - teilweise handelt es sich um Verlandungs-, teils um Verkarstungsmoore, während die Osternsee selbst als ausgesprochene

*) Für die Einführung in den Aufbau dieser Moore bin ich Herrn Regierungsrat O. KRAMER zu besonderem Dank verpflichtet.

Grundwasserseen anzusehen sind. Der Anfang der Moorbildung geht fast durchwegs bis in Präboreal zurück. Der mineralische Untergrund besteht vorwiegend aus sandigen Tonen (Schluff). Schotter und Kiese fehlen auffälligerweise, so dass anzunehmen ist, dass in diesem Gebiet weder Grund- noch Endmoränen abgelagert wurden.

Auf den Hochmoorflächen waren ursprünglich dichte Latschenbestände mit einer ausgeprägten Zonierung der Wuchsformen dominierend, nur die Moormitte war baumfrei. Hier waren typische Schlenken- und Büttelflächen vorhanden mit Sphagnen, *Eriophorum vaginatum*, *Rhynchospora alba*, niederwachsener *Calluna* und den übrigen Begleitpflanzen. Durch Entwässerung, Rodung und andere Eingriffe im Zuge der technischen Nutzung wurden grössere Flächen vielfach verändert. Nur zwischen Boden und Singerbach ist auf einigen Gebieten die Vegetation unverändert geblieben.

Der Aufbau der Torfschichten ist im Hochmoorgebiet sehr gleichmässig. Über dem mineralischen Untergrund, der, wie oben schon erwähnt, vorwiegend aus Ton und sandigem Ton (Schluff) besteht, folgen 20 bis 100 cm Carexradikellen-Phragmitestorfe. Darüber lagern 30 bis 50 cm Übergangsmoortorfe, auf denen an manchen Stellen 30 bis 90 cm starke humifizierte Sphagnumtorfe liegen, die wiederum von ca. 300 bis 400 cm mächtigen Sphagnumtorfen mit etwas geringeren Humifizierungsgraden überdeckt sind. Bei den Übergangsmoortorfen sind vielfach reichliche Einschlüsse an Birken- und Erlenholzresten festzustellen, während in den Sphagnumtorfschichten nur an einigen Stellen Holzkreste eingeschlossen sind. Die Struktur der Torfe zeigt vorwiegend mittlere Humifizierungsgrade. Der Wassergehalt des grab-offenen Torfs liegt bei 90 bis 92 %. Mineralische Einlage liegen bzw. Einschwemmungen sind im Gebiet des Hochmoores nicht vorhanden.

Das eigentliche Hochmoor wird wegen der gleichmässigen Torfqualitäten schon seit über 100 Jahren technisch genutzt. Als

einmalige Leertypen sind die auf diesem Moor durchgeführten Entwicklungsarbeiten auf dem Gebiet des Torfverhaltens zu bezeichnen.

Charakterisierung des Moorprofils

Die Entnahme der Torfproben erfolgte an einem ganz frischen Torfstich etwa 2 km nordwestlich von Staltach (Oberbayern). Das Profil war in einer Tiefe von 260 cm frei gelegt worden. In der folgenden Tabelle 1 sind die wichtigsten Charakteristika der zu untersuchenden Proben aufgeführt:

Tabelle 1

Probe Nr.	Tiefe d. Entnahme cm	Wassergehalt %	pH-Gehalt		Zersetzungsgeschwindigkeit v. POST	Botanische Charakterisierung
			KOH	H ₂ O		
I	25	36,5	3,12	3,50	H 6	Sphagnum-Eriophorumtorf mit zahlreichen Eubdocoliderococcus, Milbenlarven, Gallmücken
II	50	36,0	3,12	3,68	H 5	Sphagnum-Eriophorumtorf
III	75	39,4	3,20	3,73	H 4-5	Sphagnum-Eriophorumtorf
IV	125	38,9	3,60	4,32	H 6	Carexradizellentorf mit geringen Hyphaeanteil
V	195	37,4	4,10	4,86	H 6-7	Carexradizellentorf
VI	255	38,6	5,04	5,03	H 7	Carexradizellentorf mit geringen Hyphaeanteil

Methoden

Bei der Wassergehaltsbestimmung wurden 5 g naturfeuchter Torf 24 Stunden bei 110°C getrocknet und dann wieder gewogen. Die Differenz im Gewicht stellt den Wasserverlust dar. Die Bestimmungen waren vor allem für die Messung des pH-Werts notwendig.

Zur Messung des pH-Werts dienten jeweils 5 g Torf (ausgesiebt auf 0,25 mm Sieb), die in 100 ml einer 1%igen Lösung von gekochtem aquadest. aufgeschwemmt wurden. Gemessen wurde mit der 2. Auflage des Komplexes nach LAUTENSCHLAGER (1950) mit einer Chinhydrin-Kalomel-Elektrode. Dabei konnte beobachtet werden, dass die Proben I, II, III, IV und V im KCl-Auszug einen sauren Charakter aufwiesen, der im wässrigen Aufschwemmungszustand offensichtlich auf die von LAUTENSCHLAGER und GILBERT für Schimmelpilze charakteristische Säureausschüttelbarkeit zurückzuführen sei. Für die Probe VI zeigte sich ein basisches Verhalten, was sich in einem pH-Wert von 7,5 ausdrückte. Diese Ergebnisse deuten auf die Tatsache hin, dass die Proben I bis V eine saure Reaktion aufweisen, während die Probe VI eine basische Reaktion aufweist, was auf eine Versäuerung der Probe VI hindeutet.

Die Probe VI wurde in der drei ersten Lagerungsstadien des Schimmelpilzes untersucht und dabei wurde festgestellt, dass die Probe VI eine basische Reaktion aufweist, was auf eine Versäuerung der Probe VI hindeutet. Die Probe VI wurde in der drei ersten Lagerungsstadien des Schimmelpilzes untersucht und dabei wurde festgestellt, dass die Probe VI eine basische Reaktion aufweist, was auf eine Versäuerung der Probe VI hindeutet.

Die quantitative Verteilung der Bakterien im Torfprofil

Um die quantitative Verteilung der Bakterien im Torfprofil kennen zu lernen, wurden Bakterienzählungen von Torfproben durchgeführt. Die entsprechenden Proben wurden unter Berücksichtigung

zilen Bedingungen entnommen. Hierzu wurde das vorher erst freigelegte Profil in der Vertikalen etwa 20 cm tief abgeholt, mit einem Benzinkocher die für die Probeentnahme vorgesehene Stelle abgeflammt und mit einem ausgeheizten Hohl der Torf in sterile, luftdichte Kleinbüchsen abgekratzt. Diese wurden über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt, darauf der Inhalt der Büchsen im Impfkasten mit einem ster. Spatel auf Glasnachtschale und die für die Keimzahlbestimmung entsprechenden Verdünnungen hergestellt.

In einem Vorversuch wurde zuerst eine direkte Keimzahlbestimmung (nach einer Methode von SALLÉ) versucht. Es zeigte sich jedoch, dass eine direkte Keimzählung für Torfproben wohl kaum in Frage kommt, da die Mikroben nicht eindeutig von den feinsten, mikroskopisch kleinen Torfteilchen unterschieden werden können. Aus diesem Grunde wählten wir zur Keimzahlbestimmung das KOCHsche Plattenverfahren.

Nach der üblichen Verdünnungsmethode wurden 4 g naturfeuchter Torf in keimfreien Soxhlet-Flaschen mit dem gewünschten Volumen sterilen Leitungswassers gebracht und mit sterilen Glasperlen auf einem Schüttelapparat mit einer Frequenz von 60-100/min 20 Minuten lang geschüttelt. Als geeignet hatten sich Verdünnungen von 1:5000, 1:10 000 und 1:100 000 erwiesen. Vor dem Pipettieren wurden die Flaschen nochmals mit der Hand tüchtig umgeschüttelt um eine möglichst gleichmässige Verteilung der Suspension zu erreichen.

Zum Gossen der Platten wurde Standard-II-Agar (MERCK) verwendet. Dieser Nährboden erwies sich in einem Vorversuch als verhältnismässig günstiges Medium. Der pH-Wert wurde mit NaOH auf 7 eingestellt.

Da Schimmelpilze und Actinomyceten auf diesem Nähragar nur beschränkt gedeihen, wurden sie nicht mitgezählt. Es konnte lediglich beobachtet werden, dass auf den Platten der Proben I und II gelegentlich einige Schimmelpilze und auf den Platten von Probe IV nach der Beobachtungszeit von 8 bis 10 Tagen bei 25° C Actinomyceten auftraten.

Die Keimzahlungen wurden in zwei getrennten Versuchen durchgeführt, wobei für eine Probe jeweils der Durchschnittswert aus drei parallelen Platten berechnet wurde. Die Verdünnung von 1:5 000 erwies sich als die günstigste und wurde für alle folgenden Versuche beibehalten.

Tabelle 2

Probe	Mittelwerte aus je 3 Kontrollen		Atmungsintensität in mg CO ₂
	f-Wert/g Torf 1 Versuch	Ø-Wert/g Torf 2 Versuch	
I	16 500	15 000	17,1
II	8 000	8 000	17,3
III	208 000	203 000	20,1
IV	150 000	51 000	19,2
V	612 000	588 000	17,6
VI	695 000	680 000	19,0

Die Plattenabschälmethode kann jedoch keine ganz exakten Ergebnisse liefern. Das hat verschiedene Gründe. Ein Hauptproblem stellt die Nährbodenfrage dar. So können zum Beispiel nitrifizierende Bakterien nicht auf Agarnährmedien wachsen. Ferner spielt die Zusammensetzung des Nährbodens, das Redoxpotential, der pH-Wert, die Bebrütungstemperatur, die Salzkonzentration usw. eine Rolle. Es ist daher nicht möglich, allen Bakterienarten gleich günstige Wachstumsbedingungen zu schaffen.

Außerdem bildet das Adsorptionsvermögen der Torfteilchen eine Fehlerquelle. Da die Gewebereste der höheren Pflanzen und Moose und die durch Huminsäurebildung entstandenen Kolloide eine grosse Oberfläche aufweisen, muss damit gerechnet werden, dass selbst durch gründliches Schütteln die Bakterien nicht vollständig im sterilen Wasser suspendiert werden.

Die Bestimmung der Keimzahlen nach den Plattenverfahren kann

aus diesen Gründen nur eine relative Verteilung der Bakterien im Torfprofil wiedergeben. Der Vorteil der Methode liegt jedoch in der Tatsache begründet, dass die auf den Platten erscheinenden Kolonien isoliert und physiologisch bzw. systematisch untersucht werden und infolgedessen gewisse Schlüsse auf die qualitative Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaften gezogen werden können. Da gerade diese Frage im Zusammenhang mit der Verwertbarkeit der in Torf vorkommenden Aminosäuren interessiert, war diese Methode für unsere Zwecke durchaus geeignet.

Die Atmungsintensität der in Torf lebenden Mikroorganismen in Abhängigkeit vom Profil

Bei der Bestimmung der Atmungsintensität der Mikroben in den Proben des Profils interessierte die Frage, ob die Atmungsgrößen in Abhängigkeit zu den Bakterienkeimzahlen steht. Dies wäre der Fall, wenn alle Mikroorganismen ungefähr die gleiche Menge CO_2 in der gleichen Zeit (unter gleichen Laboratoriumsbedingungen) entwickeln würden.

Dazu wurde die von E. POSCHENRIEDER modifizierte Methode von ISCHWILER zur CO_2 -Bestimmung (s. Anhang 2*) in kleinen Portionen auf 15 g naturfeuchter Torf angewendet. Die Probe wurde auf 1 Literfässern in Weckgläser gebracht. Der Boden des Fasses wurde mit 20 cm einer n/10 Barytlauge, worin diese sofort verschwindet und 6 Tage bei 20°C im Dunkeln stehen gelassen. Mit n/10 Salzsäure und Phenolphthalein als Indikator konnte dann die noch nicht durch Bildung von Bariumkarbonat verbrauchte Menge an Barytlauge titriert werden. Dabei entspricht 1 cm verbrauchter n/10 Barytlänge = 2,2 mg CO_2 .

*) vgl. Dissertation E. ISCHWILER, Universität München, 1937

Eine Gegenüberstellung der Werte für die Atmungsintensität mit den Keimzahlen gibt Figur 1. Daraus ist ersichtlich, dass die CO_2 -Entwicklung bis zur Probe IV mit den Werten für die Keimzahlen etwa parallel verläuft, dagegen ist bei den Proben V und VI ein kleinerer Proportionalitätsfaktor vorhanden. Obwohl die in den Proben V und VI sehr häufigen *Neurospora*-arten physiologisch sehr vielseitige Leistungen anweisen, zeigen sie sich im Torf selbst offenbar bezüglich CO_2 -Produktion ziemlich träge.

Untersuchung und Bestimmung der aus dem Torfprofil isolierten Kolonien

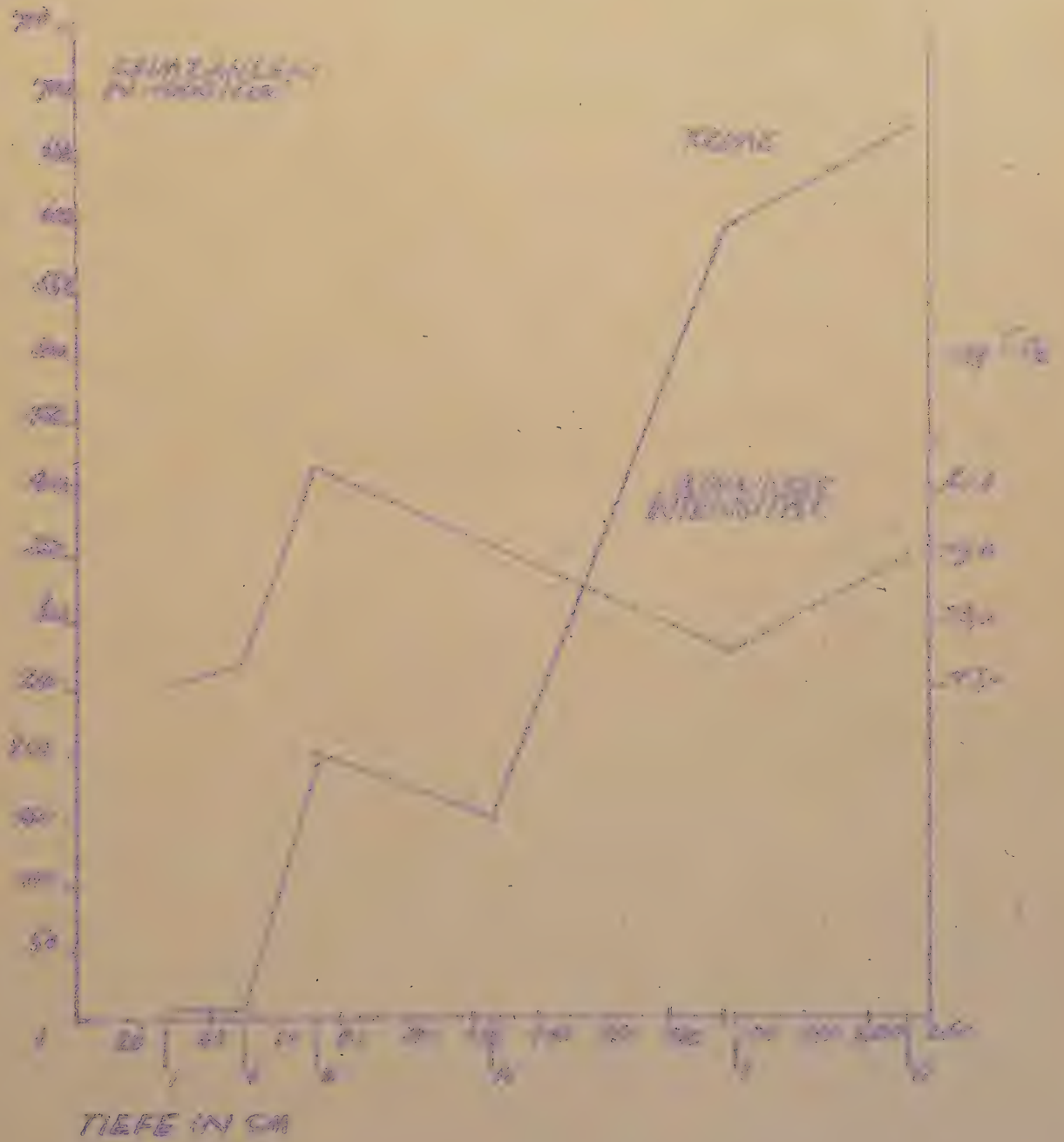
Die Untersuchung der durch die Keimzählung erhaltenen Kolonien aus dem Torfprofil hatte den Zweck, die erhaltenen Einzelproben systematisch einzuordnen, die Verwertbarkeit der im Torf vorkommenden freien Aminosäuren durch diese näher kennenzulernen und die Abhängigkeit der einzelnen autochthonen Bakteriengruppen vom Torfprofil zu überprüfen.

Um zu einwandfreien Einzelkolonien bzw. Reinkulturen zu gelangen, wurden von jeder Schicht drei bis fünf der durch das Plattenzählverfahren erhaltenen Kolonien nach äußerlich Erkennbaren, meist nur geringfügigen Unterschieden ausgewählt und nach der üblichen Methode auf Standard-II-Agarplatten angestreift. Diese Kolonien wurden auf Schrägagar weitergezüchtet und nach 5 bis 6 Passagen über Standard-II-Agar im Länglichen tropfen und mittels der Differentialfärbung nach Gram auf ihren Reineitsgrad geprüft.

Die einzelnen Kulturen wurden nach den Torfproben mit römischen, zur Unterscheidung innerhalb der Gemeinschaft einer Probe mit arabischen Zahlen numeriert.

Zur Bestimmung der Bakterien wurden vor allem jene Eigenschaf-

Gegenüberstellung der Werte für die
Atmungsintensität mit den Keimzahlen



ten herangezogen, die in BERNHEYS Manual aufgeführt sind. Die Herstellung der entsprechenden Nährböden erfolgte nach dem Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria, das bei BERNHEYS empfohlen wird, und nach JANKE und BAILEY je nach Bedarf wurden einige Vorschriften etwas abgeändert.

1. Die mikroskopisch bestimmbaren Merkmale der Mikroben

Wie schon erwähnt, wurde zur Reinheitsprüfung die GRAM-Färbung nach einer Färbenvorschrift des bakteriologisch-serologischen Kurses des Hygienischen Instituts der Universität München mit Karbolgentianaviolett und Karbolfuchsin zur Gegenfärbung angewandt.

An den GRAM-Präparaten wurden die Grössenmessungen mit dem vorher geeichten Mikroskop vorgenommen. An jedem Kulturen-Präparat wurden 5-6 Messungen, bei Stäbchen 3 Längen- und 3 Breitenmessungen vorgenommen, sodass eine gewisse Variationsbreite erfasst wurde. Bei der Messung von gefärbten Bakterien muss natürlich in Betracht gezogen werden, dass diese durch die Fixierung schon etwas geschrumpft sein können. Die Messung an gefärbten Bakterien wurde aber trotzdem der an Lebenden vorgezogen, da diese eventuell mit Schleim umgeben sein können und die Kerne bei getrockneten besser erkennbar sind.

Die Lebendbeobachtung im hängenden Tropfen liess die morphologischen Eigenschaften an den Flüssigkeitskulturen erkennen, die teilweise von denen der Agarkulturen etwas abweichen, ausserdem können gewisse Zellverhältnisse, wie etwa Sarkinostein einwandfrei nur im hängenden Tropfen erkannt werden. Mit dieser Methode wurde auch die Beweglichkeit bzw. Unbeweglichkeit der Bakterienarten festgestellt.

2. Die kulturelle Charakterisierung

Zur Charakterisierung der Züchtungseigenschaften fanden folgende Nährmedien Verwendung:

- a) Standard-II-Nähragar (MERCK) für Schräg-
chen und Agarplatten
- b) Standard-II-Mehlbouillon (MERCK) für vertikale
Kulturen und 1%ige Gelatinestrichkulturen
und Gelatineplatten.

Sterilisiert wurden die Nährmedien im Autoklav bei 2 Atm
bzw. 130°C .

3. Die physiologische Charakterisierung

a) Das Verhalten der Bakterien gegenüber Kohlehydrat- Indikator-Nährmedien

Als Basalmedium diente wiederum Standard-II-Bouillon, die
vorher mit B-vit auf Verwendbarkeit von Kohlehydraten ge-
prüft worden war. Dazu wurde 1% des jeweiligen Kohlehydrats
und als Indikator Bromthymolblau zugesetzt. Als Gasanzeiger
wurden Duranröhrchen in die Kulturröhrchen gegeben. Unter-
sucht wurde das Verhalten der Bakterien gegenüber den fol-
genden 5 (6) Kohlehydraten:

Monosaccharid:	Pentose: Arabinose
	Hexose: Glucose
Disaccharid:	Saccharose
Trisaccharid:	Raffinose
Sechsh. Alkohol:	Glycerin
(Polysaccharid: Stärke)	

Die Sterilisation erfolgte im Autoklav bei 110°C , 10 Mi-
nuten, wobei streng darauf geachtet wurde, dass die Tempera-
tur nicht über 110°C stieg. Die Röhrchen wurden ja auf 2-3
cm in kaltes Wasser getaucht. Nach 2-tägigen Bebrüten bei
 25°C zeigte sich, dass sie steril waren.

Der Indikator Bromthymolblau schlägt in einem pH-Bereich von
pH 6,0 bis 7,6 um, sodass die Gelbfärbung eine eindeutige
Säurebildung anzeigt.

b) Die Nitritbildung aus Nitrat

Die Bestimmung der Nitratreduktion erfolgte nach dem Manual of Methods mithilfe einer Nitratbouillon (Fleischextrakt-
Pepton 3 g/l mit 0,1 % KNO_3). Dabei wurde nur der Nachweis von Nitrit geführt, da für diagnostische Zwecke der von BERGER gebrauchte Ausdruck "nitrates reduced" diesen Zweck gerecht wird. Es konnte in keinem Fall von Nitritbildung oder Verschwinden von Nitrit innerhalb von 23 Tagen beobachtet werden. Scheunbildung trat nicht auf. Als Nachweisreagenzien dienten: 1. eine Lösung von (5g) o-Naphthylamin in (1 L) 5n Essigsäure und 2. eine Lösung von (8g) Sulfanilsäure in (1 L) 5n Essigsäure. Die Bakterienkulturen wurden in der Zeit von 23 Tagen 3 mal getestet, wobei eine Öse der beimpften und bebrüteten Nährlösung auf einem Filtrierpapierstreifen (S & S 2045b) gebracht wurde und anschliessend jeweils eine Öse o-Naphthylaminlösung und eine Öse Sulfanilsäurelösung auf den gleichen Fleck aufgetragen wurde. Auf diese Weise ist es möglich, die Kulturen kontinuierlich zu untersuchen. Die bei positiven Ausfall der Nachweisreaktion auftretende rote Farbe ist auf dem Filtrierpapier mindestens halbober.

Der Versuch wurde sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen ausgeführt. Dabei konnte bei einigen Arten verschiedenes Verhalten beobachtet werden. So konnte bei den Stämmen I_1 und I_2 aerob Nitrit nachgewiesen werden, jedoch nicht anaerob. Bei V_3 wurde unter anaeroben Bedingungen Nitrit gebildet, jedoch nicht unter aeroben. Von den übrigen nitritbildenden Kulturen wurde dieses sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Verhältnissen gebildet. Diese Ergebnisse können so gedeutet werden, dass die Stämme I_1 und I_2 aerob nicht wachsen. Statt V_3 unter anaeroben Bedingungen den Sauerstoff des Nitrats verbraucht und die übrigen Stämme fakultativ aerob bzw. anaerob sind. Auffallend war, dass die fluoreszierenden Kulturen kein Nitrit bildeten.

Die Kultur der Bakterien unter anaeroben Verhältnissen erfolgte in einem Exsikkator, der mit der Öldruckpumpe evaku-

Es wurde an 10 dessen Inneren sich ein Gefäß mit Pyrogalllösung und ein Gefäß mit konzentrierter Natriolauge befand. Nach dem Evakuieren wurden beide Gefäße angekippelt, sodass eine alkalische Pyrogalllösung entstand, die sich beim Stehenlassen über Nacht hellbraun verfärbte. Es ist deshalb anzunehmen, dass bei dieser Methode nur annähernd anaerobe Verhältnisse im strengen Sinne vorlagen.

Zur Übersicht soll noch folgende Tabelle dienen, in der die Nitrit-bildenden Stämme zusammengefasst wurden:

Tabelle 3

Kulturen	I ₁	I ₂	III ₁	III ₂	III ₄	IV ₃	V ₂	V ₃	V ₄
Tag 3- Beobachtung	2 +	2 +	2 +	2 +	2 +	2 +	2 +	2 +	2 +
Nitritbildg. aerob	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nitritbildg. anaerob	-	-	-	+	+	+	+	+	+

c) Das Verhalten gegenüber Lacksusmilch

Die Herstellung der Lacksusmilch erfolgte folgendermaßen: Frischmilch wurde 10 Minuten bei 3500 U/min. zentrifugiert und abgetrennt. Dann wurde 10 % einer konzentrierten Lacksuslösung (LAPCK) zugegeben und nach Abfüllen in Röhrchen 22 Minuten bei 110° C in autoclavierten sterilierten. Nach dem Sterilisieren wurden die Röhrchen sofort abgekühlt und 7 Tage lang bebrütet. Bei dem geringen Prozentsatz war kein Erfolg.

6 Tage nach dem Beimpfen und Bebrüten konnten beträchtliche Unterschiede in Reduktion, Reduktions- und Reduktionsvermögen der Kulturen festgestellt werden. Dabei zeigte sich, dass die nitritbildenden Bakterien mit zwei Ausnahmen (III₁ und V₄) aus dem Lacksusfarbstoff reduzierten, die starken Nitrite-

verflüssiger auch das Casein der Milch peptonisierver.
Die sauren bzw. alkalischen Reaktionen der Kulturen von V
und VI wurden zur Kontrolle noch mittels Platinöse und Indi-
katorpapier geprüft, wobei sich herausstellte, dass alle Kul-
turen von VI ungefähr pH 8 aufwiesen.

d) Die Verflüssigung von Gelatine

Als Nährmedium diente Standard-II-Bouillon (MERCK), die mit
14 % Gelatine versetzt war. Die Stuchkulturen wurden bei Sim-
mertemperatur (etwa 20-21° C) bebrütet. Hierbei zeigte schon
nach wenigen Tagen eine Reihe von Kulturen beginnende Ver-
flüssigung, die dann auch weiterhin anhielt bis nach mehreren
Wochen die Gelatine restlos verflüssigt worden war. Andere Ar-
ten hingegen begannen erst nach mehreren Tagen die Gelatine
zu verflüssigen und erwiesen sich auch später nicht sehr ak-
tiv. Dieses Verhalten wird so erklärt, dass die schnellen
Verflüssiger die Gelatine spaltenden Enzyme aktiv ausscheiden
("wahre Verflüssiger"), die Enzyme der langsamen Verflüssiger
erst nach dem Tod der Bakterienzellen frei werden. Unter den
langsamen Verflüssigern kamen jedoch auch wahre Verflüssiger
vor, die aktiv Proteasen ausscheiden. *)

e) Die Bildung von Schwefelwasserstoff

Die Bakterien wurden in einer Standard-II-Bouillon kultiviert,
der etwas Cystin zugesetzt worden war. Zum Nachweis des Schwe-
felwasserstoffs wurden mit Bleiacetat getränkte Filtrierpa-
pierstreifen in den oberen Teil der Kulturröhrchen gehängt.
Nach 4-tägigen Bebrüten und Einbringen in ein Wasserbad von
30° C konnte bei einer Reihe von Kulturen Schwefelwasserstoff
nachgewiesen werden.

*) Manual of Methods for Pure Culture Study of Bacteria

f) Die Bildung von Indol

Bestimmte Bakterien sind befähigt, aus Tryptophan Indol zu bilden. Diese Eigenschaft ist von grosser Bedeutung für die Bestimmung. Das Nährmedium muss daher eine gewisse Menge Tryptophan enthalten. Die Standard-II-Bouillon eignet sich für diesen Zweck, was sowohl in der Gebrauchsanweisung erklärt wird als auch durch Kontrollversuche mit Indol bildenden Bakterien bestätigt wurde. Der Nachweis von Indol erfolgte mittels NOVACZ-Reagens (MENCK). Keiner der aus dem Tarifprofil isolierten Stämme zeigte dabei eine positive Reaktion, obwohl sie nach 24 Stunden und nach 48 Stunden Bebrütungsdauer getestet wurden.

g) Das Vorsetzen in einem Nährmedium mit sekundären Ammoniumphosphat als einziger Stickstoffquelle

Vor allem für die Diagnose der Micrococaceae hat das Verhalten gegenüber einem Nährmedium, das als Stickstoffquelle nur ein Ammoniumsalz enthält, von Bedeutung. Die Nährlösung wurde nach BURDET hergestellt. Das primäre Ammoniumphosphat wurde durch die gleiche Menge des sekundären Phosphats ersetzt. ($(NH_4)_2HPO_4$ 2,5 g, KCl 0,2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2 g, Wasser 100 ml, Glukose 10,0 g.) Von den zu untersuchenden Stämmen waren die Stöbechen bereit, das Ammoniumphosphat als N-Quelle zu verwenden, die Extraktingen nicht.

h) Die Bildung von Ammoniak

Die Bildung von Ammoniak aus den in der Bouillon enthaltenen Aminosäureanteilen durch Deaminierung wurde mit feuchten roten Litmuspapierstreifen, die zwischen Stopfen und Hals der Kulturröhren eingeklemmt waren, getestet. Dieser Test ist nicht sehr spezifisch, da auch flüchtige Amine das Lackmuspapier bläuen. Nachdem die Stämme zweimal auf Ammoniak geprüft worden waren, liess sich erkennen, dass die meisten Stämme wenigstens geringe Mengen von Ammoniak bildeten.

i) Das Verhalten zum Luftsauerstoff

Um das Verhalten gegenüber dem Luftsauerstoff festzustellen, wurden Schüttelkulturen mit Standard-II-Agar (in hoher Schicht) angelegt. Zur Kontrolle wurde noch in Tiefstichkulturen das Wachstum entlang des Stabkanals untersucht. Die Ergebnisse der beiden Methoden stimmten gut überein. Die Stämme II_1 , II_2 , II_3 und III_3 ließen auf normalem Schüttelröhrchen nur spärliches Wachstum erkennen, was sich aus dem Verhalten zum Sauerstoff erklären lässt.

j) Die Hydrolyse von Stärke

Das Stärkespaltungsvermögen der Kulturen wurde mit Hilfe einer Stärkebouillon (Fleischextrakt 5 g, lösliche Stärke 2 g, Wasser 1000 ml) untersucht. Das Wachstum der Bakterien in diesem Nährmedium war ausnehmend gut. Zum Nachweis der Stärke wurde innerhalb von 7 Tagen dreimal mit der Platinoase eine Tupfelreaktion mit LUGOLscher Lösung vorgenommen. Nach 10 Tagen wurde zu den Kulturröhrchen eine an einer anbelegten Kontrolle gefundene, zur Bläuung ausreichende Menge LUGOLscher Lösung zugesetzt, wobei die gleichen Ergebnisse wie bei der Tupfelreaktion erhalten wurden. Bei den Stämmen II_2 , II_3 , IV_2 , V_2 , V_3 , V_4 und VI_1 kam es zu einem sehr schnellen Verschwinden des blauen Iodstoffs. Erst nach Zugabe von mehr LUGOLscher Lösung blieb die blaue Farbe beständig.

k) Das Fluoreszenzvermögen

Für die Charakterisierung der einzelnen *Pseudomonas*-arten ist das Fluoreszenzvermögen von wesentlicher Bedeutung. Die Bildung des chemisch noch nicht genau definierten Farbstoffes Fluoreszin wurde unter einer UV-Lampe der Firma RANCO mit Vergleich einer Blindprobe geprüft. Im besten Falle ließ sich das Fluoreszenzvermögen der entsprechenden Stämme in flüssigen Nährmedien (Bouillon, n/50 Aminosäurelösung) nachweisen. Die bei der Gelatinezersehung auftretende Flüssigkeit eignet sich ebenfalls sehr gut zum Nachweis. Auch auf Agar konnte Fluoreszenz beobachtet werden, wobei sich zeigte, dass der Farbstoff

in den Ager diffundiert.

Im Tageslicht war eine gelblich-grüne, unter der UV-Lampe eine weisslich-blaugrüne Fluoreszenz festzustellen.

Bei einem Versuch, das sehr stark fluoreszierende Pigment des Stammes VI₂ zu isolieren, wurden die Eiweissbestandteile einer Bakterienkultur durch Methanol ausgefällt. Daraufhin bei 3000 U/min abzentrifugiert und das Sentrifugat durch ein Bakterienfilter geschickt, sodass eine im Tageslicht gelblich-grün, unter der UV-Lampe blau fluoreszierende, klare Flüssigkeit erhalten wurde. Nach Eindampfen des Filtrats wurde mit Propandol-Wasser (7:2) als Lösungsmittel aufsteigend chromatographiert. Hierbei liessen sich 5 fluoreszierende Flecken auf dem Chromatogramm unterscheiden. Zur Kontrolle wurde das Chromatogramm mit Ninhydrin entwickelt, da auch verschiedene Aminosäuren und Peptide unter der UV-Lampe fluoreszieren. Es zeigte sich jedoch, dass die fluoreszierenden Flecken sich mit Ninhydrin nicht anfärben. Damit konnte wahrscheinlich gemacht werden, dass das als "Fluoreszin" im weiteren Sinne bezeichnete Pigment aus mehreren Komponenten zusammengesetzt ist.

Bei einer Fällung mit acet. fluoreszierende Niederschlag sehr stark, die überstehende klare Lösung hingegen schwach. Aus dieser Lösung liessen sich nur zwei fluoreszierende Substanzen erhalten. Neben diesen fluoreszierenden Substanzen wurde regelmässig noch ein gelblichgrüner, nicht fluoreszierender Stoff isoliert.

21 Das Wachstum in teilsynthetischer Nährlösung

Folgender Zusammensetzung: Je 1/50 Lösung von Glutaminsäure, Asparaginsäure, Serin, Alanin und Glycin, 1 g K_2HPO_4 , eine Spur Magnesiumsulfat und 1 ccm HOAGLANDsche A-Z-Lösung pro ein Liter Wasser. Neutralisiert wurde mit Natronlauge, sterilisiert bei 115° 2-15 Minuten.

m) Der Teste 10 14 - Misch Peptonwasser

Das Peptonwasser enthielt nur eine Spur NaCl, um zu erfahren, ob Peptone bei sehr geringer Salzkonzentration (ähnlich wie die Verhältnisse im Moor vorliegen) abgebaut zu werden vermögen.

Die systematische Stellung der einzelnen Stämme

Die Kenntnis der für einen Stamm wichtigen Charakteristika soll zur Aufklärung der Stellung in einem taxonomischen System führen. Dabei ist jedoch außer anderem das häufige Auftreten von Variationen bzw. Mutanten bei Bakterien zu berücksichtigen.

Außerdem ist bei der Bestimmung nach BERGEY's Manual nicht ohne weiteres ersichtlich, ob die bei der ersten Bestimmung bzw. Beschreibung verwendeten Methoden und Nährmedien genau die gleichen wie die eigenen waren (z.B. ist nicht ersichtlich, ob Nitritbildung unter aeroben oder anaeroben Bedingungen beobachtet wurde usw.).

Eine Verunsicherung der kulturellen und physiologischen Eigenschaften können also folgendermaßen eintreten:

1. durch Anpassen an die verschiedenen Nährmedien,
2. dadurch, dass die Kulturen der Reinkulturen schon im Torf als Meisten bereits beschriebener Arten vorliegen.

Es ist aber nicht ausgeschlossen, dass es sich teilweise um noch nicht beschriebene Arten oder Varietäten handelt. Dies wäre zum Beispiel möglich bei der als *Agarobacterium candidus* var. bezeichneten Art, zumal diese in 3 verschiedenen Stämmen aus verschiedenen Tiefen jeweils etwa die gleichen Abweichungen von der in BERGEY's Manual beschriebenen Art aufwiesen. Ähnlich verhalten sich die als *Pseudomonas pavonacea* var. bezeichneten Stämme.

Bei Stamm IV₂ und IV₃ war eine nähere Einordnung in das System von F. J. W. nicht möglich. Es kam lediglich heraus, dass Stamm IV₃ als gramnegatives, unbewegliches, gasbildendes Stäbchen in die Familie der Enterobacteriaceae gehört, von denen einige Formen frei im Boden leben.

Der Stamm IV₂ muss wohl in die Familie Bacillaceae eingeordnet werden, die jedoch systematisch eine noch recht unübersichtliche Gruppe von verschiedenen Bakterien bildet. CHIN (in BERGERS Manual) schreibt darüber: "This is a heterogeneous collection of species, whose relationship to each other and to other groups are not clear."

Übersicht über die Eigenschaften der einzelnen Arten

Stamm I, Micrococcus epidermidis (WITTROW & LITTELOW) RUCKENSTEIN

1. Morphologie: vorwiegend Diplokokken, auch einzeln
2. Größe: 1,2 bis 1,4 μ
3. GRAM-Färbung: positiv
4. Wachstumsort, Trübung, viskoses Sediment
5. Aggregation: grauweiß-gelblich, einzelne und zusammenfließende Kolonien entstehen von Luftstrich
6. Gelatinekollase: kräftig, unregelmäßig gelappt
7. Agarkolonien: kreisförmig, tiefgelappt, glatt, feucht glänzende, flache Kolonien
8. Arabinosebouillon: Trübung
9. Saccharosebouillon: Gärung
10. Raffinosebouillon: Trübung
11. Mannitbouillon: schwache Gärungsbildung
12. Glukosebouillon: schwache Gärungsbildung
13. Nitratreduktion: +
14. Lackmusmilch: Säurebildung, leichte Reduktion
15. $(NH_4)_2HPO_4$ als N-Quelle: kein Wachstum
16. Ammoniakbildung: schwach
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: keine
19. Gelatineverflüssigung: langsam
20. Wachstum in Peptonwasser (mit wenig $NaCl$): -
21. Schüttelkulturen: aerob

22. H_2S -Bildung: keine
23. Wachstum in Aminosäurenlösung: +
24. Fluoreszenz: keine
25. Stärkeabbau: +

Abweichungen: in Grösse, Ringbildung, sehr spät einsetzende Säurebildung aus Mannit.

Stamm I₂: Micrococcus aurantiacus (SCHROETER) COHN.

var. A. KRIEGER (Micrococcus epidermidis)

1. Morphologie: Diplokokken
2. Grösse: 1,2 bis 1,4 μ
3. GRAM-Färbung: positiv
4. Bouillonkultur: Kahmhaut und Trübung
5. Agarstrich: grauweiss, gleichförmiges Wachstum entlang des Impfstrichs
6. Gelatinekolonien: konzentrische Ringe, trachig gelappt
7. Agarkolonien: kreisförmig, glatt, feuchtglänzende Flächen bis konvexe, ganzrandige Kolonien
8. Arabinosebouillon: Trübung
9. Saccharosebouillon: Trübung, schwache Säurebildung
10. Raffinosebouillon: Trübung
11. Mannitbouillon: sehr schwache Säurebildung
12. Glukosebouillon: Säurebildung
13. Nitratreduktion: +
14. Lackmuslösung: Säurebildung, leichte Reduktion
15. $(NH_4)_2HPO_4$ als N-Quelle: kein Wachstum
16. Ammoniakbildung: stark
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: keine
19. Gelatineverflüssigung: langsam
20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spot No. 11)
21. Schüttelkultur: aerob
22. H_2S -Bildung: keine
23. Wachstum in Aminosäurenlösung: +
24. Strophotaxis: keine
25. Stärkeabbau: positiv

Abweichung: langsame Gelatineverflüssigung

Stamm II: Micrococcus candidus COHN (var.

1. Morphologie: vorwiegend Diplokokken, auch einzeln
2. Grösse: 1,2 bis 1,4 μ
3. GRAM-Färbung: positiv
4. Bouillonkultur: wenig Trübung, schwaches, viel von "Bedien"
5. Agarstrich: feines, einzelne und zusammenhängende Kolonien entlang des Impfstrichs

6. Gelatinkolloid: -
7. Agarkolloid: kein Kolloid, nur oberflächige, gerandete glatte, feucht-glasige, flache bis konvexe Kolonien
8. Arabinosebouillon: schwache Trübung
9. Saccharosebouillon: Säurebildung
10. Raffinosebouillon: Trübung
11. Mannitbouillon: Trübung
12. Glukosebouillon: Säurebildung
13. Nitratreduktion: keine
14. Lackmusbouillon: keine
15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: kein Wachstum
16. Ammoniakbildung: keine
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: unbeweglich
19. Gelatineverflüssigung: keine
20. Wachstum in Tryptophan (mit FeCl_3): -
21. Schüttelkultur: fakultativ aerob
22. H_2S -Bildung: keine
23. Wachstum in Aminosäurenlösung: negativ
24. Fluoreszenz: gelblich
25. Stärkeabbau: +

Abweichung: in Stärkeabbau, Ammoniakbildung, graduelle Unterschiede in Grösse und Verhalten zum Sauerstoff, keine Kapselhaut, nicht weiss, sondern mehr durchscheinend.

Stamm II: *Micrococcus luteus* (H. 11)

Physiologische Eigenschaften: -

Stamm II:

Abweichung: -

Stamm II: *Micrococcus luteus* (H. 11)

2. Morphologie: -
7. Agarkolloid: -
16. Ammoniakbildung: -
21. Schüttelkultur: -

Stamm II: *Micrococcus luteus* (H. 11)

Stamm II: *Micrococcus luteus* (H. 11)

1. Morphologie: -
2. Grösse: -
4. Gelatinkolloid: -
8. Arabinosebouillon: -

- 9. Saccharosebouillon: Säurebildung
- 11. Mannitbouillon: schwache Säurebildung
- 14. Lackmusmilch: Säurebildung und Reduktion

Sonst wie Stamm I₂.

Stamm III₂: Achromobacter delmarvae SMART (var.)

- 1. Morphologie: Stäbchen bis Kurzstäbchen
- 2. Grösse: 0,5 bis 0,7 μ (Agar) 1,2 x 3 μ (Bouillon)
- 3. GRAM-Färbung: negativ
- 4. Bouillonkultur: Trübung, Kahlhaut, schwaches, körniges Sediment
- 5. Agarstrich: gelblich-farblos, einzelne und zusammenfliessende Kolonien entlang des Impfstrichs
- 6. Gelatinekolonien: -
- 7. Agarkolonien: bräunlichgelb, glatt, flach, etwas weilliger Rand
- 8. Arabinosebouillon: Säurebildung
- 9. Saccharosebouillon: Säurebildung
- 10. Raffinosebouillon: Säurebildung
- 11. Mannitbouillon: Säurebildung
- 12. Glukosebouillon: Säurebildung
- 13. Nitratreduktion: +
- 14. Lackmusmilch: Säurebildung und Reduktion
- 15. (NH₄)₂HPO₄ als N-Quelle: Wachstum und Säurebildung
- 16. Ammoniakbildung: stark
- 17. Indolbildung: keine
- 18. Beweglichkeit: unbeweglich
- 19. Gelatineverflüssigung: keine
- 20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl): +
- 21. Schüttelkultur: fakultativ aerob
- 22. H₂S-Bildung: stark
- 23. Wachstum in Aminosäurelösung: +
- 24. Fluoreszenz: keine
- 25. Stärkeabbau: keiner

Abweichungen: in H₂S-Bildung und Ammoniakbildung.

Stamm III₃: Micrococcus candidus COHN (var.)

- 21. Schüttelkultur: mikroaerophil

Sonst wie Stamm II₁.

Stamm III₄: Achromobacter eurydice (WHITE) BERGLEY et al.

- 1. Morphologie: Stäbchen bis kurzstäbchen
- 2. Grösse: 0,6 bis 0,7 μ (Agar), 1,2-1,2 x 2,0 μ (Bouillon)
- 3. GRAM-Färbung: negativ
- 4. Bouillonkultur: schwache Trübung, schwache Kahlhaut
- 5. Agarstrich: gelblich-grau, einzelne und zusammenfliessende Kolonien entlang des Impfstrichs

6. Gelatinekolonien: -
7. Agarkolonien: -
8. Arabinosebouillon: schwache Säurebildung
9. Saccharosebouillon: schwache Säurebildung
10. Raffinosebouillon: keine Säurebildung
11. Mannitbouillon: Trübung, schwache Säurebildung
12. Glukosebouillon: Säurebildung
13. Nitratreduktion: +
14. Lackmusalb: Säurebildung, leichte Reduktion
15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: Wachstum, Säurebildung
16. Ammoniakbildung: stark
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: keine
19. Gelatineverflüssigung: keine
20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl): +
21. Schüttelkultur: fakultativ aerob
22. H_2S -Bildung: keine
23. Wachstum in Aminosäurebouillon: schwach
24. Fluoreszenz: sehr schwach
25. Stärkeabbau: keiner

Abweichung: bei BERGLEY ist von Nitritbildung nichts bekannt.

Stamm IV₁: Micrococcus candidus CORN (var.)

Abweichung: nur in Grösse (1,4 μ), Säurebildung aus Saccharose erst nach 10 Tagen, sonst wie bei BERGLEY

Stamm IV₂: Bacterium spec.

1. Morphologie: Kurzstäbchen
2. Grösse: 1,2 bis 0,6 x 1,6 x 0,7 μ
3. GRAM-Färbung: positiv
4. Bouillonkultur: schwache Trübung, Kahlhaut
5. Agarstrich: gelblich-grau, gleichförmiges Wachstum entlang des Löffelstrichs
6. Gelatinekolonien: -
7. Agarkolonien: ziegelrot, kreisrund, konvex, glatt, ganzrandig, klein
8. Arabinosebouillon: Trübung
9. Saccharosebouillon: Trübung
10. Raffinosebouillon: Trübung
11. Mannitbouillon: Trübung
12. Glukosebouillon: Trübung
13. Nitratreduktion: keine
14. Lackmusalb: alkalisch
15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: Wachstum
16. Ammoniakbildung: schwach
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: unbeweglich
19. Gelatineverflüssigung: keine
20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl): +

10. Raffinosebouillon: Trübung
 11. Mannitbouillon: Trübung
 12. Glukosebouillon: Trübung
 13. Nitratreduktion: keine
 14. Lackmusmilch: alkalisch
 15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: gutes Wachstum
 16. Ammoniakbildung: stark
 17. Indolbildung: keine
 18. Beweglichkeit: beweglich
 19. Gelatineverflüssigung: rasch, horizontal
 20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl): +
 21. Schüttelkultur: aerob
 22. H_2S -Bildung: keine
 23. Wächst in Aminosäurenlösung: +
 24. Fluoreszenz: stark (Gelatinestrich, Agarplatten)
 25. Stärkeabbau: keiner
 26. Wachstum bei 37°C : spärlich
- Abweichung: horizontale Verflüssigung.

Stamm V.: *Pseudomonas multistriata* (WRIGHT) CHRESTEN

1. Morphologie: Stäbchen bis Kurzstäbchen
 2. Grösse: 1,4 bis 0,7 x 1,5 bis 0,8 μ
 3. GRAM-Färbung: negativ
 4. Bouillonkultur: Trübung
 5. Agarrichter: farblos, gleichförmiges Wachstum
lang des Inokulstrichs
 6. Gelatinekolonien: unregelmässig, gelappt, daz.
scheinend
 7. Agarcolonien: schneitig-weiss, Kreisrand, glatt,
flach, etwas wellig
 8. Raffinosebouillon: Säure- und Gasbildung
 9. Mannitbouillon: Säure- und Gasbildung
 10. Glukosebouillon: Säure- und Gasbildung
 11. Nitratreduktion: +
 12. Lackmusmilch: leicht sauer, Reduktion, Gasbildung,
Koagulation
 13. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: gutes Wachstum, Säurebildung
 14. Ammoniakbildung: schwach
 15. Indolbildung: keine
 16. Beweglichkeit: -
 17. Gelatineverflüssigung: langsam
 18. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl): +
 19. Schüttelkultur: fakultativ aerob
 20. H_2S -Bildung: stark
 21. Wachstum in Aminosäurenlösung: gut
 22. Fluoreszenz: keine oder höchstens sehr schwach
 23. Stärkeabbau: keiner
 24. Wachstum bei 37°C : sehr spärlich
- Abweichung: Nitritbildung.

Stamm V₃: Pseudomonas hydrophila CHESTER comb nov. (ver.)

1. Morphologie: Stäbchen bis Kurzstäbchen
2. Grösse: 0,7 bis 1,6 μ
3. GRAM-Färbung: negativ
4. Bouillonkultur: Trübung, schwaches Sediment
5. Agarstrich: farblos, gleichförmiges Wachstum entlang des Impfstrichs
6. Gelatinekolonien: unregelmässig, gelappt
7. Agarkolonien: gelblich, unregelmässig, feucht glasig, etwas wellig, flach
8. Arabinosebouillon: Säure- und Gasbildung
9. Saccharosebouillon: Säure- und Gasbildung
10. Raffinosebouillon: Säure- und Gasbildung
11. Mannitbouillon: Säure- und Gasbildung
12. Glukosebouillon: Säure- und Gasbildung
13. Nitratreduktion: + (nur anaerob)
14. Lackmismilch: leicht sauer, Reduktion, Gasblasen, Koagulation
15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: gutes Wachstum, Säurebildung
16. Ammoniakbildung: stark
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: beweglich
19. Gelatineverflüssigung: langsam
20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl): +
21. Schüttelkultur: fakultativ aerob
22. H_2S -Bildung: stark
23. Wachstum in Aminosäurenlösung: +
24. Fluoreszenz: keine oder höchstens sehr schwach
25. Stärkesabbau: negativ

Abweichungen: keine Rahmhautbildung, höchstens sehr schwache Peptonisierung der Milch, keine Indolbildung.

Stamm V₄: Pseudomonas nebulosa (WRIGHT) CHESTER

1. Morphologie: Stäbchen bis Kurzstäbchen
2. Grösse: 0,7 bis 0,9 x 1,3 bis 1,5 μ
3. GRAM-Färbung: negativ
4. Bouillonkultur: Trübung, schwaches Sediment, Rahmhaut
5. Agarstrich: dottergelb, gleichförmiges Wachstum entlang des Impfstrichs
6. Gelatinekolonien: unregelmässig, gelappt
7. Agarkolonien: rein gelb, unregelmässig, z.T. kreisförmig, flach, etwas welliger Rand
8. Arabinosebouillon: Säure- und Gasbildung
9. Saccharosebouillon: Säurebildung
10. Raffinosebouillon: Trübung
11. Mannitbouillon: Säurebildung
12. Glukosebouillon: Säurebildung
13. Nitratreduktion: +
14. Lackmismilch: schwach alkalisch, Reduktion Koagulation

15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: Wachstum, Säurebildung
16. Ammoniakbildung: stark
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: beweglich
19. Gelatineverflüssigung: rasch, horizontal
20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl):
21. Schüttelkultur: fakultativ aerob
22. Wachstum in Aminosäurenlösung: +
23. H_2S -Bildung: stark
24. Fluoreszenz: keine
25. Stärkeabbau: keiner

Abweichungen: gelbes Pigment, Kakaohaut, Nitritbildung

Stamm V: Pseudomonas pavonacea LEVINE AND SOPPELAND

1. Morphologie: Stäbchen
2. Grösse: $1,6-2,8 \times 0,6-0,9 \mu$
3. GRAM-Färbung: negativ
4. Bouillonkultur: Trübung, Kakaohaut
5. Agarstich: farblos, Wachstum entlang des Imhoffstrichs mit gezackten Rändern
6. Gelatinekolonien: -
7. Agarcolonien: schmutzig-weiss, unregelmässig, glatt, flach wellig
8. Arabinosebouillon: Trübung
9. Saccharosebouillon: Trübung
10. Raffinosebouillon: Trübung
11. Mannitbouillon: Trübung
12. Glukosebouillon: Trübung
13. Nitratreduktion: keine
14. Lackmilch: alkalisch, Peptonisation
15. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ als N-Quelle: Wachstum, Säurebildung
16. Ammoniakbildung: sehr stark
17. Indolbildung: keine
18. Beweglichkeit: beweglich
19. Gelatineverflüssigung: rasch, horizontal
20. Wachstum in Peptonwasser (mit Spur NaCl):
21. Schüttelkultur: fakultativ aerob
22. H_2S -Bildung: keine
23. Wachstum in Aminosäurenlösung: +
24. Fluoreszenz: stark
25. Stärkeabbau: keiner

Abweichung: horizontale Gelatineverflüssigung

Stamm VI: Pseudomonas pavonacea LEVINE AND SOLERMAN

Physiologische und morphologische Eigenschaften wie S. 28

Stamm VI₁ - etwas pavonaise LEVINE AND SOPPELAND

etwas kleinere ...
... ..

Stamm VI₂ - etwas pavonaise LEVINE AND SOPPELAND

4., Kahmannau, sonst wie Stamm V₅

Stamm V₁ -

2. Größe 1,

Stamm VI₁ - LEVINE AND SOPPELAND

Phy.
Stamm V₁

Der Termin "Übertragung"
Anleitung zu

Die
... ..

Bei der Untersuchung der
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

Nach der
... ..
... ..
... ..

Tiefe von 25 cm) war alles bis jetzt beobachtenden Mikrokokken *Micrococcus epidermidis* und *Micrococcus surantis* bestimmt werden konnten, wurden in den darunterliegenden Schichten (ab einer Tiefe von 50 bis 125 cm) vorwiegend ein *Micrococcus candidus* var., der in den tieferen Teilen mit *Achromobacter*, *Bacterium* und *Enterobacterium*arten vergesellschaftet war, gefunden. In den beiden Proben aus der Tiefe von 195 cm und 225 cm wurden nur noch *Pseudomonas*arten isoliert.

Der besseren Übersicht halber seien die Ergebnisse in der folgenden Tabelle 4 vergleichend zusammengestellt:

Tabelle 4

Tiefe in cm	Verteilung der Bakterienarten in den verschiedenen Tiefschichten
25	<i>Micrococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus surantis</i>
50	<i>Micrococcus candidus</i> 3 x
75	<i>Micrococcus surantis</i> <i>Micrococcus candidus</i> <i>Achromobacter delmarvae</i> <i>Achromobacter aurydice</i>
125	<i>Micrococcus candidus</i> <i>Bacterium spec. ?</i> <i>Enterobacterium spec. ?</i>
195	<i>Pseudomonas schuykillensis</i> <i>Pseudomonas multistriata</i> <i>Pseudomonas hydrophila</i> <i>Pseudomonas nebulosa</i> <i>Pseudomonas pavonacea</i>
225	<i>Pseudomonas pavonacea</i> 4 x <i>Pseudomonas schuykillensis</i>

Die deutliche Profiltabhängigkeit der physiologischen Eigenschaften der Bakterien konnte ebenfalls festgestellt werden. Dies soll folgende Tabelle 5 (s.S.31) veranschaulichen.

- 31 -
Tabelle 5

Stamm	Tiefe cm	physiologische Leistung											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I ₁	25	K	V	S	S	O	O	O	StA	S	N	O	O
		K	V	S	S	O	O	S	O	S	N	Sch	O
II ₁ II ₂ II ₃	50	K	O	S	S	O	O	O	StA	S	O	O	O
		K	O	S	S	O	O	O	StA	S	O	Sch	O
		K	O	S	S	O	O	O	StA	S	O	O	O
III ₁ III ₂ III ₃ III ₄	75	K	V	S	S	S	O	S	StA	S	N	O	O
		St-	C	S	S	S	S	S	O	S	N	Sch	AP
		K	O	S	S	O	O	O	StA	S	O	Sch	O
		St-	O	S	S	S	O	S	O	±	N	O	AP
IV ₁ IV ₂ IV ₃	125	K	O	O	S	O	O	O	O	O	O	Sch	O
		St+	O	O	O	O	O	O	O	O	O	Sch	AP
		St-	O	SG	SG	S	SG	SG	O	S	N	O	AP
V ₁ V ₂ V ₃ V ₄ V ₅ V ₆	195	St-	V	S	O	O	O	O	O	O	O	O	AP
		St-	V	SG	SG	SG	SG	SG	O	S	N	Sch	AP
		St-	V	SG	SG	SG	SG	SG	O	S	N	Sch	AP
		St-	V	S	S	SG	O	S	O	O	N	Sch	AP
		St-	V	O	S	O	O	O	O	±	O	O	AP
		St-	V	O	O	O	O	O	O	O	O	O	AP
VI ₁ VI ₂ VI ₃ VI ₄ VI ₅	255	St-	V	O	O	O	O	O	O	O	O	O	AP
		St-	V	O	O	O	O	O	O	O	O	O	AP
		St-	V	O	O	O	O	O	O	O	O	O	AP
		St-	V	O	O	O	O	O	O	O	O	O	AP
		St-	V	O	O	O	O	O	O	O	O	O	AP

- 1 - Morphologie, grampositive (oder gramnegative) Stäbchen (St+ oder St-), Kokken (K)
- 2 - Gelatineverflüssigung (V)
- 3 - Säurebildung aus Saccharose (S), Gasbildung (G)
- 4 - Säurebildung aus Glukose (S), Gasbildung (G)
- 5 - Säurebildung aus Arabinose (S), Gasbildung (G)
- 6 - Säurebildung aus Raffinose (S), Gasbildung (G)
- 7 - Säurebildung aus Mannit (S), Gasbildung (G)
- 8 - Stärkeabbau (StA)
- 9 - Säurebildung in Lackmusmilch (S)
- 10 - Nitritbildung
- 11 - H₂S-Bildung (Sch)
- 12 - Wachstum mit (NH₄)₂HPO₄ als Stickstoffquelle (AP)

Da beim KOCHschen Plattengießverfahren nur ein geringer Bruchteil der vorhandenen Mikroben erfasst wird und von den auf den Platten erzielten Kulturen wiederum nur wenige zur genauer Bestimmung herangezogen werden können, kann das Ergebnis dieser Untersuchung nur eine verhältnismässig grobe Vorstellung von der tatsächlich vorhandenen Bakterienzusammensetzung sein. Dennoch dürften beim Plattengießverfahren doch die am häufigsten und zahlreichsten vorhandenen Bakterienarten am häufigsten auf den Platten erscheinen. Wenn aber von der wenigen, bestimmten Bakterien in einer Schicht mehrere zur gleichen Art oder Familie gehören, so kann man das wohl kaum als eine Zufälligkeit betrachten, sondern dieser Mikroorganismengruppe muss ein prozentual sehr hoher Anteil an der Bakteriengemeinschaft der betreffenden Tiefenschicht zufallen.

Die Verwertbarkeit einiger Aminosäuren durch die isolierten Bakterienstämme

Wie schon lange bekannt ist, dienen Aminosäuren vielen Bakterien als Nährstoffe. HEIGENER beschreibt 1935 eine Reihe von Bakterien, die Aminosäuren als einzige C- und N-Nährstoffe verwerten. Im Zusammenhang mit der Untersuchung der im Torf vorkommenden freien und gebundenen Aminosäuren wurde das Wachstum der Bakterienstämme auf einzelnen Aminosäuren als einzige C- und N-Nährstoffe geprüft. Dabei wurden vor allem folgende Aminosäuren herangezogen, die als freie Aminosäuren im Torf eine Rolle spielen (s. 1. Abschnitt, S. 3.3. 2):

1. Glutaminsäure
2. Alanin
3. B-Alanin
4. Glykokoll
5. Valin
6. Serin

Als Nährlösung wurde nach HEIGENER eine n/50 Lösung mit entsprechenden Aminosäuren mit 0,1 % K_2HPO_4 und 0,1 % HEMI-LANDScher A-Z-Lösung versetzt, mit NaOH neutralisiert und bei $110^{\circ}C$ sterilisiert. HEIGENER verwendete bei seinen Versuchen Agar. Dies wurde jedoch bei den eigenen Versuchen unterlassen, da auch gewässertes Agar oft noch geringe Mengen an Stickstoffverbindungen enthält oder, wie RIPPET bei *Arctobacter* zeigte, eine Wachstumsstimulierung, deren Ursache nicht genau definiert wäre, hervorrufen könnte.

Bemerkenswert ist nun die Beobachtung, dass *Ps. multistriata*, *Ps. hydrophila* und *Ps. nebulosa* auf n/50 Alaninlösung, und *Ps. multistriata* und *Ps. hydrophila* in n/50 Serinlösung, zur Bildung eines Fluoreszenzfarbstoffes angeregt werden.

Um einen Anhaltspunkt für die Eignung der entsprechenden Aminosäuren als C- und N-Quelle zu haben, wurde die Wachstumsintensität in den Kulturröhrchen durch die Zahlen 1 bis 5 in der Weise festgelegt, dass man aus allen Kulturen des Röhrchen mit der schwächsten, gerade noch erkennbaren und das der stärksten Trübung auswählte und hierauf die zwischensich liegenden Trübungsgrade aussuchte. Mit einer solchen Standardreihe wurden sämtliche Kulturen erstmals 3 Tage nach der Beimpfung und endgültig nach 4 Wochen verglichen. Erst dieser Zeit liess sich keine Zunahme in der Trübung intensität mehr erkennen.

Die Bedeutung der Zahlen ist folgende:

- | | | |
|----|---|-------------------------|
| 0 | = | keine Entwicklung, |
| Sp | = | Spuren von Entwicklung, |
| 1 | = | sehr schwache, |
| 2 | = | schwache, |
| 3 | = | deutliche, |
| 4 | = | starke, |
| 5 | = | sehr starke Trübung. |

Die folgende Tabelle 6 gibt die Wachstumsintensität für sämtliche isolierten Stämme an (s.S.34):

Tabelle 2

Stamm	B-Ala- nin	A-Ala- nin	G-Ala- min- säure	Se- rin	Ser- in	Val- in
I ₁	0	4	4	3	1	3
I ₂	0	2	1	0	0	1
II ₁	0	Sp	Sp	0	0	0
II ₂	0	1	Sp	0	0	0
II ₃	0	1	0	0	0	0
III ₁	Sp	2	3-4	2	2	2
III ₂	0	3-4	3-4	1	0	1
III ₃	0	2	0	0	0	0
III ₄	-	-	-	-	-	-
IV ₁	1	2	3-4	3	1	2
IV ₂	2	3	3	1	2	2
IV ₃	0	3	3	0	0	0
V ₁	3	1	4	4	1	3-4
V ₂	0	3-4	4	2	0	0
V ₃	0	4	4	3-4	0	Sp
V ₄	0	3-4	4-5	Sp	0	Sp
V ₅	2	4	3-4	4	2-3	3
VI ₁	2	3-4	3-4	3-4	1	2
VI ₂	3	4	4	-	1-2	1
VI ₃	2	3-4	4-5	3	2	3
VI ₄	3	4	4-5	3-4	2	1
VI ₅	3-4	-	4-5	2	2-3	2

Als den vorstehenden Ergebnissen, die mit anderen Zahlen
 (Tabelle 1) in hervorragender Übereinstimmung sind, ist die
 auch, dass nicht alle Aminosäuren gleich gut ausreichten
 im Versuchsplan. Für die Güte der Aminosäuren als Nahrung
 kann daraus eine Reihenfolge aufgestellt werden: 1. Alanin,
 2. Asparaginsäure, 3. Serin, 4. Valin, 5. Glutaminsäure, 6. Threonin, 7. Leucin, 8. Isoleucin, 9. Phenylalanin, 10. Tyrosin, 11. Histidin, 12. Tryptophan, 13. Arginin, 14. Prolin, 15. Glycin, 16. Asparaginsäure, 17. Glutaminsäure, 18. Alanin, 19. Valin, 20. Serin, 21. Threonin, 22. Isoleucin, 23. Leucin, 24. Phenylalanin, 25. Tyrosin, 26. Histidin, 27. Tryptophan, 28. Arginin, 29. Prolin, 30. Glycin, 31. Asparaginsäure, 32. Glutaminsäure, 33. Alanin, 34. Valin, 35. Serin, 36. Threonin, 37. Isoleucin, 38. Leucin, 39. Phenylalanin, 40. Tyrosin, 41. Histidin, 42. Tryptophan, 43. Arginin, 44. Prolin, 45. Glycin, 46. Asparaginsäure, 47. Glutaminsäure, 48. Alanin, 49. Valin, 50. Serin, 51. Threonin, 52. Isoleucin, 53. Leucin, 54. Phenylalanin, 55. Tyrosin, 56. Histidin, 57. Tryptophan, 58. Arginin, 59. Prolin, 60. Glycin, 61. Asparaginsäure, 62. Glutaminsäure, 63. Alanin, 64. Valin, 65. Serin, 66. Threonin, 67. Isoleucin, 68. Leucin, 69. Phenylalanin, 70. Tyrosin, 71. Histidin, 72. Tryptophan, 73. Arginin, 74. Prolin, 75. Glycin, 76. Asparaginsäure, 77. Glutaminsäure, 78. Alanin, 79. Valin, 80. Serin, 81. Threonin, 82. Isoleucin, 83. Leucin, 84. Phenylalanin, 85. Tyrosin, 86. Histidin, 87. Tryptophan, 88. Arginin, 89. Prolin, 90. Glycin, 91. Asparaginsäure, 92. Glutaminsäure, 93. Alanin, 94. Valin, 95. Serin, 96. Threonin, 97. Isoleucin, 98. Leucin, 99. Phenylalanin, 100. Tyrosin, 101. Histidin, 102. Tryptophan, 103. Arginin, 104. Prolin, 105. Glycin, 106. Asparaginsäure, 107. Glutaminsäure, 108. Alanin, 109. Valin, 110. Serin, 111. Threonin, 112. Isoleucin, 113. Leucin, 114. Phenylalanin, 115. Tyrosin, 116. Histidin, 117. Tryptophan, 118. Arginin, 119. Prolin, 120. Glycin, 121. Asparaginsäure, 122. Glutaminsäure, 123. Alanin, 124. Valin, 125. Serin, 126. Threonin, 127. Isoleucin, 128. Leucin, 129. Phenylalanin, 130. Tyrosin, 131. Histidin, 132. Tryptophan, 133. Arginin, 134. Prolin, 135. Glycin, 136. Asparaginsäure, 137. Glutaminsäure, 138. Alanin, 139. Valin, 140. Serin, 141. Threonin, 142. Isoleucin, 143. Leucin, 144. Phenylalanin, 145. Tyrosin, 146. Histidin, 147. Tryptophan, 148. Arginin, 149. Prolin, 150. Glycin, 151. Asparaginsäure, 152. Glutaminsäure, 153. Alanin, 154. Valin, 155. Serin, 156. Threonin, 157. Isoleucin, 158. Leucin, 159. Phenylalanin, 160. Tyrosin, 161. Histidin, 162. Tryptophan, 163. Arginin, 164. Prolin, 165. Glycin, 166. Asparaginsäure, 167. Glutaminsäure, 168. Alanin, 169. Valin, 170. Serin, 171. Threonin, 172. Isoleucin, 173. Leucin, 174. Phenylalanin, 175. Tyrosin, 176. Histidin, 177. Tryptophan, 178. Arginin, 179. Prolin, 180. Glycin, 181. Asparaginsäure, 182. Glutaminsäure, 183. Alanin, 184. Valin, 185. Serin, 186. Threonin, 187. Isoleucin, 188. Leucin, 189. Phenylalanin, 190. Tyrosin, 191. Histidin, 192. Tryptophan, 193. Arginin, 194. Prolin, 195. Glycin, 196. Asparaginsäure, 197. Glutaminsäure, 198. Alanin, 199. Valin, 200. Serin, 201. Threonin, 202. Isoleucin, 203. Leucin, 204. Phenylalanin, 205. Tyrosin, 206. Histidin, 207. Tryptophan, 208. Arginin, 209. Prolin, 210. Glycin, 211. Asparaginsäure, 212. Glutaminsäure, 213. Alanin, 214. Valin, 215. Serin, 216. Threonin, 217. Isoleucin, 218. Leucin, 219. Phenylalanin, 220. Tyrosin, 221. Histidin, 222. Tryptophan, 223. Arginin, 224. Prolin, 225. Glycin, 226. Asparaginsäure, 227. Glutaminsäure, 228. Alanin, 229. Valin, 230. Serin, 231. Threonin, 232. Isoleucin, 233. Leucin, 234. Phenylalanin, 235. Tyrosin, 236. Histidin, 237. Tryptophan, 238. Arginin, 239. Prolin, 240. Glycin, 241. Asparaginsäure, 242. Glutaminsäure, 243. Alanin, 244. Valin, 245. Serin, 246. Threonin, 247. Isoleucin, 248. Leucin, 249. Phenylalanin, 250. Tyrosin, 251. Histidin, 252. Tryptophan, 253. Arginin, 254. Prolin, 255. Glycin, 256. Asparaginsäure, 257. Glutaminsäure, 258. Alanin, 259. Valin, 260. Serin, 261. Threonin, 262. Isoleucin, 263. Leucin, 264. Phenylalanin, 265. Tyrosin, 266. Histidin, 267. Tryptophan, 268. Arginin, 269. Prolin, 270. Glycin, 271. Asparaginsäure, 272. Glutaminsäure, 273. Alanin, 274. Valin, 275. Serin, 276. Threonin, 277. Isoleucin, 278. Leucin, 279. Phenylalanin, 280. Tyrosin, 281. Histidin, 282. Tryptophan, 283. Arginin, 284. Prolin, 285. Glycin, 286. Asparaginsäure, 287. Glutaminsäure, 288. Alanin, 289. Valin, 290. Serin, 291. Threonin, 292. Isoleucin, 293. Leucin, 294. Phenylalanin, 295. Tyrosin, 296. Histidin, 297. Tryptophan, 298. Arginin, 299. Prolin, 300. Glycin, 301. Asparaginsäure, 302. Glutaminsäure, 303. Alanin, 304. Valin, 305. Serin, 306. Threonin, 307. Isoleucin, 308. Leucin, 309. Phenylalanin, 310. Tyrosin, 311. Histidin, 312. Tryptophan, 313. Arginin, 314. Prolin, 315. Glycin, 316. Asparaginsäure, 317. Glutaminsäure, 318. Alanin, 319. Valin, 320. Serin, 321. Threonin, 322. Isoleucin, 323. Leucin, 324. Phenylalanin, 325. Tyrosin, 326. Histidin, 327. Tryptophan, 328. Arginin, 329. Prolin, 330. Glycin, 331. Asparaginsäure, 332. Glutaminsäure, 333. Alanin, 334. Valin, 335. Serin, 336. Threonin, 337. Isoleucin, 338. Leucin, 339. Phenylalanin, 340. Tyrosin, 341. Histidin, 342. Tryptophan, 343. Arginin, 344. Prolin, 345. Glycin, 346. Asparaginsäure, 347. Glutaminsäure, 348. Alanin, 349. Valin, 350. Serin, 351. Threonin, 352. Isoleucin, 353. Leucin, 354. Phenylalanin, 355. Tyrosin, 356. Histidin, 357. Tryptophan, 358. Arginin, 359. Prolin, 360. Glycin, 361. Asparaginsäure, 362. Glutaminsäure, 363. Alanin, 364. Valin, 365. Serin, 366. Threonin, 367. Isoleucin, 368. Leucin, 369. Phenylalanin, 370. Tyrosin, 371. Histidin, 372. Tryptophan, 373. Arginin, 374. Prolin, 375. Glycin, 376. Asparaginsäure, 377. Glutaminsäure, 378. Alanin, 379. Valin, 380. Serin, 381. Threonin, 382. Isoleucin, 383. Leucin, 384. Phenylalanin, 385. Tyrosin, 386. Histidin, 387. Tryptophan, 388. Arginin, 389. Prolin, 390. Glycin, 391. Asparaginsäure, 392. Glutaminsäure, 393. Alanin, 394. Valin, 395. Serin, 396. Threonin, 397. Isoleucin, 398. Leucin, 399. Phenylalanin, 400. Tyrosin, 401. Histidin, 402. Tryptophan, 403. Arginin, 404. Prolin, 405. Glycin, 406. Asparaginsäure, 407. Glutaminsäure, 408. Alanin, 409. Valin, 410. Serin, 411. Threonin, 412. Isoleucin, 413. Leucin, 414. Phenylalanin, 415. Tyrosin, 416. Histidin, 417. Tryptophan, 418. Arginin, 419. Prolin, 420. Glycin, 421. Asparaginsäure, 422. Glutaminsäure, 423. Alanin, 424. Valin, 425. Serin, 426. Threonin, 427. Isoleucin, 428. Leucin, 429. Phenylalanin, 430. Tyrosin, 431. Histidin, 432. Tryptophan, 433. Arginin, 434. Prolin, 435. Glycin, 436. Asparaginsäure, 437. Glutaminsäure, 438. Alanin, 439. Valin, 440. Serin, 441. Threonin, 442. Isoleucin, 443. Leucin, 444. Phenylalanin, 445. Tyrosin, 446. Histidin, 447. Tryptophan, 448. Arginin, 449. Prolin, 450. Glycin, 451. Asparaginsäure, 452. Glutaminsäure, 453. Alanin, 454. Valin, 455. Serin, 456. Threonin, 457. Isoleucin, 458. Leucin, 459. Phenylalanin, 460. Tyrosin, 461. Histidin, 462. Tryptophan, 463. Arginin, 464. Prolin, 465. Glycin, 466. Asparaginsäure, 467. Glutaminsäure, 468. Alanin, 469. Valin, 470. Serin, 471. Threonin, 472. Isoleucin, 473. Leucin, 474. Phenylalanin, 475. Tyrosin, 476. Histidin, 477. Tryptophan, 478. Arginin, 479. Prolin, 480. Glycin, 481. Asparaginsäure, 482. Glutaminsäure, 483. Alanin, 484. Valin, 485. Serin, 486. Threonin, 487. Isoleucin, 488. Leucin, 489. Phenylalanin, 490. Tyrosin, 491. Histidin, 492. Tryptophan, 493. Arginin, 494. Prolin, 495. Glycin, 496. Asparaginsäure, 497. Glutaminsäure, 498. Alanin, 499. Valin, 500. Serin, 501. Threonin, 502. Isoleucin, 503. Leucin, 504. Phenylalanin, 505. Tyrosin, 506. Histidin, 507. Tryptophan, 508. Arginin, 509. Prolin, 510. Glycin, 511. Asparaginsäure, 512. Glutaminsäure, 513. Alanin, 514. Valin, 515. Serin, 516. Threonin, 517. Isoleucin, 518. Leucin, 519. Phenylalanin, 520. Tyrosin, 521. Histidin, 522. Tryptophan, 523. Arginin, 524. Prolin, 525. Glycin, 526. Asparaginsäure, 527. Glutaminsäure, 528. Alanin, 529. Valin, 530. Serin, 531. Threonin, 532. Isoleucin, 533. Leucin, 534. Phenylalanin, 535. Tyrosin, 536. Histidin, 537. Tryptophan, 538. Arginin, 539. Prolin, 540. Glycin, 541. Asparaginsäure, 542. Glutaminsäure, 543. Alanin, 544. Valin, 545. Serin, 546. Threonin, 547. Isoleucin, 548. Leucin, 549. Phenylalanin, 550. Tyrosin, 551. Histidin, 552. Tryptophan, 553. Arginin, 554. Prolin, 555. Glycin, 556. Asparaginsäure, 557. Glutaminsäure, 558. Alanin, 559. Valin, 560. Serin, 561. Threonin, 562. Isoleucin, 563. Leucin, 564. Phenylalanin, 565. Tyrosin, 566. Histidin, 567. Tryptophan, 568. Arginin, 569. Prolin, 570. Glycin, 571. Asparaginsäure, 572. Glutaminsäure, 573. Alanin, 574. Valin, 575. Serin, 576. Threonin, 577. Isoleucin, 578. Leucin, 579. Phenylalanin, 580. Tyrosin, 581. Histidin, 582. Tryptophan, 583. Arginin, 584. Prolin, 585. Glycin, 586. Asparaginsäure, 587. Glutaminsäure, 588. Alanin, 589. Valin, 590. Serin, 591. Threonin, 592. Isoleucin, 593. Leucin, 594. Phenylalanin, 595. Tyrosin, 596. Histidin, 597. Tryptophan, 598. Arginin, 599. Prolin, 600. Glycin, 601. Asparaginsäure, 602. Glutaminsäure, 603. Alanin, 604. Valin, 605. Serin, 606. Threonin, 607. Isoleucin, 608. Leucin, 609. Phenylalanin, 610. Tyrosin, 611. Histidin, 612. Tryptophan, 613. Arginin, 614. Prolin, 615. Glycin, 616. Asparaginsäure, 617. Glutaminsäure, 618. Alanin, 619. Valin, 620. Serin, 621. Threonin, 622. Isoleucin, 623. Leucin, 624. Phenylalanin, 625. Tyrosin, 626. Histidin, 627. Tryptophan, 628. Arginin, 629. Prolin, 630. Glycin, 631. Asparaginsäure, 632. Glutaminsäure, 633. Alanin, 634. Valin, 635. Serin, 636. Threonin, 637. Isoleucin, 638. Leucin, 639. Phenylalanin, 640. Tyrosin, 641. Histidin, 642. Tryptophan, 643. Arginin, 644. Prolin, 645. Glycin, 646. Asparaginsäure, 647. Glutaminsäure, 648. Alanin, 649. Valin, 650. Serin, 651. Threonin, 652. Isoleucin, 653. Leucin, 654. Phenylalanin, 655. Tyrosin, 656. Histidin, 657. Tryptophan, 658. Arginin, 659. Prolin, 660. Glycin, 661. Asparaginsäure, 662. Glutaminsäure, 663. Alanin, 664. Valin, 665. Serin, 666. Threonin, 667. Isoleucin, 668. Leucin, 669. Phenylalanin, 670. Tyrosin, 671. Histidin, 672. Tryptophan, 673. Arginin, 674. Prolin, 675. Glycin, 676. Asparaginsäure, 677. Glutaminsäure, 678. Alanin, 679. Valin, 680. Serin, 681. Threonin, 682. Isoleucin, 683. Leucin, 684. Phenylalanin, 685. Tyrosin, 686. Histidin, 687. Tryptophan, 688. Arginin, 689. Prolin, 690. Glycin, 691. Asparaginsäure, 692. Glutaminsäure, 693. Alanin, 694. Valin, 695. Serin, 696. Threonin, 697. Isoleucin, 698. Leucin, 699. Phenylalanin, 700. Tyrosin, 701. Histidin, 702. Tryptophan, 703. Arginin, 704. Prolin, 705. Glycin, 706. Asparaginsäure, 707. Glutaminsäure, 708. Alanin, 709. Valin, 710. Serin, 711. Threonin, 712. Isoleucin, 713. Leucin, 714. Phenylalanin, 715. Tyrosin, 716. Histidin, 717. Tryptophan, 718. Arginin, 719. Prolin, 720. Glycin, 721. Asparaginsäure, 722. Glutaminsäure, 723. Alanin, 724. Valin, 725. Serin, 726. Threonin, 727. Isoleucin, 728. Leucin, 729. Phenylalanin, 730. Tyrosin, 731. Histidin, 732. Tryptophan, 733. Arginin, 734. Prolin, 735. Glycin, 736. Asparaginsäure, 737. Glutaminsäure, 738. Alanin, 739. Valin, 740. Serin, 741. Threonin, 742. Isoleucin, 743. Leucin, 744. Phenylalanin, 745. Tyrosin, 746. Histidin, 747. Tryptophan, 748. Arginin, 749. Prolin, 750. Glycin, 751. Asparaginsäure, 752. Glutaminsäure, 753. Alanin, 754. Valin, 755. Serin, 756. Threonin, 757. Isoleucin, 758. Leucin, 759. Phenylalanin, 760. Tyrosin, 761. Histidin, 762. Tryptophan, 763. Arginin, 764. Prolin, 765. Glycin, 766. Asparaginsäure, 767. Glutaminsäure, 768. Alanin, 769. Valin, 770. Serin, 771. Threonin, 772. Isoleucin, 773. Leucin, 774. Phenylalanin, 775. Tyrosin, 776. Histidin, 777. Tryptophan, 778. Arginin, 779. Prolin, 780. Glycin, 781. Asparaginsäure, 782. Glutaminsäure, 783. Alanin, 784. Valin, 785. Serin, 786. Threonin, 787. Isoleucin, 788. Leucin, 789. Phenylalanin, 790. Tyrosin, 791. Histidin, 792. Tryptophan, 793. Arginin, 794. Prolin, 795. Glycin, 796. Asparaginsäure, 797. Glutaminsäure, 798. Alanin, 799. Valin, 800. Serin, 801. Threonin, 802. Isoleucin, 803. Leucin, 804. Phenylalanin, 805. Tyrosin, 806. Histidin, 807. Tryptophan, 808. Arginin, 809. Prolin, 810. Glycin, 811. Asparaginsäure, 812. Glutaminsäure, 813. Alanin, 814. Valin, 815. Serin, 816. Threonin, 817. Isoleucin, 818. Leucin, 819. Phenylalanin, 820. Tyrosin, 821. Histidin, 822. Tryptophan, 823. Arginin, 824. Prolin, 825. Glycin, 826. Asparaginsäure, 827. Glutaminsäure, 828. Alanin, 829. Valin, 830. Serin, 831. Threonin, 832. Isoleucin, 833. Leucin, 834. Phenylalanin, 835. Tyrosin, 836. Histidin, 837. Tryptophan, 838. Arginin, 839. Prolin, 840. Glycin, 841. Asparaginsäure, 842. Glutaminsäure, 843. Alanin, 844. Valin, 845. Serin, 846. Threonin, 847. Isoleucin, 848. Leucin, 849. Phenylalanin, 850. Tyrosin, 851. Histidin, 852. Tryptophan, 853. Arginin, 854. Prolin, 855. Glycin, 856. Asparaginsäure, 857. Glutaminsäure, 858. Alanin, 859. Valin, 860. Serin, 861. Threonin, 862. Isoleucin, 863. Leucin, 864. Phenylalanin, 865. Tyrosin, 866. Histidin, 867. Tryptophan, 868. Arginin, 869. Prolin, 870. Glycin, 871. Asparaginsäure, 872. Glutaminsäure, 873. Alanin, 874. Valin, 875. Serin, 876. Threonin, 877. Isoleucin, 878. Leucin, 879. Phenylalanin, 880. Tyrosin, 881. Histidin, 882. Tryptophan, 883. Arginin, 884. Prolin, 885. Glycin, 886. Asparaginsäure, 887. Glutaminsäure, 888. Alanin, 889. Valin, 890. Serin, 891. Threonin, 892. Isoleucin, 893. Leucin, 894. Phenylalanin, 895. Tyrosin, 896. Histidin, 897. Tryptophan, 898. Arginin, 899. Prolin, 900. Glycin, 901. Asparaginsäure, 902. Glutaminsäure, 903. Alanin, 904. Valin, 905. Serin, 906. Threonin, 907. Isoleucin, 908. Leucin, 909. Phenylalanin, 910. Tyrosin, 911. Histidin, 912. Tryptophan, 913. Arginin, 914. Prolin, 915. Glycin, 916. Asparaginsäure, 917. Glutaminsäure, 918. Alanin, 919. Valin, 920. Serin, 921. Threonin, 922. Isoleucin, 923. Leucin, 924. Phenylalanin, 925. Tyrosin, 926. Histidin, 927. Tryptophan, 928. Arginin, 929. Prolin, 930. Glycin, 931. Asparaginsäure, 932. Glutaminsäure, 933. Alanin, 934. Valin, 935. Serin, 936. Threonin, 937. Isoleucin, 938. Leucin, 939. Phenylalanin, 940. Tyrosin, 941. Histidin, 942. Tryptophan, 943. Arginin, 944. Prolin, 945. Glycin, 946. Asparaginsäure, 947. Glutaminsäure, 948. Alanin, 949. Valin, 950. Serin, 951. Threonin, 952. Isoleucin, 953. Leucin, 954. Phenylalanin, 955. Tyrosin, 956. Histidin, 957. Tryptophan, 958. Arginin, 959. Prolin, 960. Glycin, 961. Asparaginsäure, 962. Glutaminsäure, 963. Alanin, 964. Valin, 965. Serin, 966. Threonin, 967. Isoleucin, 968. Leucin, 969. Phenylalanin, 970. Tyrosin, 971. Histidin, 972. Tryptophan, 973. Arginin, 974. Prolin, 975. Glycin, 976. Asparaginsäure, 977. Glutaminsäure, 978. Alanin, 979. Valin, 980. Serin, 981. Threonin, 982. Isoleucin, 983. Leucin, 984. Phenylalanin, 985. Tyrosin, 986. Histidin, 987. Tryptophan, 988. Arginin, 989. Prolin, 990. Glycin, 991. Asparaginsäure, 992. Glutaminsäure, 993. Alanin, 994. Valin, 995. Serin, 996. Threonin, 997. Isoleucin, 998. Leucin, 999. Phenylalanin, 1000. Tyrosin, 1001. Histidin, 1002. Tryptophan, 1003. Arginin, 1004. Prolin, 1005. Glycin, 1006. Asparaginsäure, 1007. Glutaminsäure, 1008. Alanin, 1009. Valin, 1010. Serin, 1011. Threonin, 1012. Isoleucin, 1013. Leucin, 1014. Phenylalanin, 1015. Tyrosin, 1016. Histidin, 1017. Tryptophan, 1018. Arginin, 1019. Prolin, 1020. Glycin, 1021. Asparaginsäure, 1022. Glutaminsäure, 1023. Alanin, 1024. Valin, 1025. Serin, 1026. Threonin, 1027. Isoleucin, 1028. Leucin, 1029. Phenylalanin, 1030. Tyrosin, 1031. Histidin, 1032. Tryptophan, 1033. Arginin, 1034. Prolin, 1035. Glycin, 1036. Asparaginsäure, 1037. Glutaminsäure, 1038. Alanin, 1039. Valin, 1040. Serin, 1041. Threonin, 1042. Isoleucin, 1043. Leucin, 1044. Phenylalanin, 1045. Tyrosin, 1046. Histidin, 1047. Tryptophan, 1048. Arginin, 1049. Prolin, 1050. Glycin, 1051. Asparaginsäure, 1052. Glutaminsäure, 1053. Alanin, 1054. Valin, 1055. Serin, 1056. Threonin, 1057. Isoleucin, 1058. Leucin, 1059. Phenylalanin, 1060. Tyrosin, 1061. Histidin, 1062. Tryptophan, 1063. Arginin, 1064. Prolin, 1065. Glycin, 1066. Asparaginsäure, 1067. Glutaminsäure, 1068. Alanin, 1069. Valin, 1070. Serin, 1071. Threonin, 1072. Isoleucin, 1073. Leucin, 1074. Phenylalanin, 1075. Tyrosin, 1076. Histidin, 1077. Tryptophan, 1078. Arginin, 1079. Prolin, 1080. Glycin, 1081. Asparaginsäure, 1082. Glutaminsäure, 1083. Alanin, 1084. Valin, 1085. Serin, 1086. Threonin, 1087. Isoleucin, 1088. Leucin, 1089. Phenylalanin, 1090. Tyrosin, 1091. Histidin, 1092. Tryptophan, 1093. Arginin, 1094. Prolin, 1095. Glycin, 1096. Asparaginsäure, 1097. Glutaminsäure, 1098. Alanin, 1099. Valin, 1100. Serin, 1101. Threonin, 1102. Isoleucin, 1103. Leucin, 1104. Phenylalanin, 1105. Tyrosin, 1106. Histidin, 1107. Tryptophan, 1108. Arginin, 1109. Prolin, 1110. Glycin, 1111. Asparaginsäure, 1112. Glutaminsäure, 1113. Alanin, 1114. Valin, 1115. Serin, 1116. Threonin, 1117. Isoleucin, 1118. Leucin, 1119. Phenylalanin, 1120. Tyrosin, 1121. Histidin, 1122. Tryptophan, 1123. Arginin, 1124. Prolin, 1125. Glycin, 1126. Asparaginsäure, 1127. Glutaminsäure, 1128. Alanin, 1129. Valin, 1130. Serin, 1131. Threonin, 1132. Isoleucin, 1133. Leucin, 1134. Phenylalanin, 1135. Tyrosin, 1136. Histidin, 1137. Tryptophan, 1138. Arginin, 1139. Prolin, 1140. Glycin, 1141. Asparaginsäure, 1142. Glutaminsäure, 1143. Alanin, 1144. Valin, 1145. Serin, 1146. Threonin, 1147. Isoleucin, 1148. Leucin, 1149. Phenylalanin, 1150. Tyrosin, 1151. Histidin, 1152. Tryptophan, 1153. Arginin, 1154. Prolin, 1155. Glycin, 1156. Asparaginsäure, 1157. Glutaminsäure, 1158. Alanin, 1159. Valin, 1160. Serin, 1161. Threonin, 1162. Isoleucin, 1163. Leucin, 1164. Phenylalanin, 1165. Tyrosin, 1166. Histidin, 1167. Tryptophan, 1168. Arginin, 1169. Prolin, 1170. Glycin, 1171. Asparaginsäure, 1172. Glutaminsäure, 1173. Alanin, 1174. Valin, 1175. Serin, 1176. Threonin, 1177. Isoleucin, 1178. Leucin, 1179. Phenylalanin, 1180. Tyrosin, 1181. Histidin, 1182. Tryptophan, 1183. Arginin, 1184. Prolin, 1185. Glycin, 1186. Asparaginsäure, 1187. Glutaminsäure, 1188. Alanin, 1189. Valin, 1190. Serin, 1191. Threonin, 1192. Isoleucin, 1193. Leucin, 1194. Phenylalanin, 1195. Tyrosin, 1196. Histidin, 1197. Tryptophan, 1198. Arginin, 1199. Prolin, 1200. Glycin, 1201. Asparaginsäure, 1202. Glutaminsäure, 1203. Alanin, 1204. Valin, 1205. Serin, 1206. Threonin, 1207. Isoleucin, 1208. Leucin, 120

Weiter geht aus den Versuchen hervor, dass die einzelnen Bakterienarten sehr verschieden auf die einzelnen Aminosäuren grosse Reaktionsunterschiede im Wertmassstab aufweisen. Nur die Pseudomonasarten der Probe VI griffen die zugegebenen Aminosäuren alle mehr oder weniger stark an, während die Mikrokokken und Streptokokken wie M. candidus vorwiegend die Aminosäuren nicht oder nur in sehr geringem Maße abzubauen veruchten. Eine Ausnahme bildete der Stamm I₁ (M. dermatidis), der auf Glutaminsäure und Alanin ein sehr gutes, auf Serin und Valin ein massiges, gutes Wachstum erkennen liess. Glykokoll hingegen griff er nur schwach und D-Alenin überhaupt nicht an. Von den drei unter normalen Bedingungen nicht überlebensfähigen Pseudomonasstämmen V₂, V₃ und V₄ warfe M. Alagab und Glykokoll nicht, Valin nicht oder höchstens nur sehr völgernl verwerlet.

Es wurde ein Vorversuch durchgeführt, um diagnostische Gründe für eine
Mischkultur von jeweils 1/50 Glutaminsäure, Asparaginsäure, Glyk-
koll und Glykokoll in Wasser verwendet. Hierbei wurde festgestellt,
dass alle Stämme, welche die einzelnen Aminosäuren veratmen
können, auch in der Mischkultur wachsen. Die Stämme I₁ und I₂ wach-
sen in dieser Mischkultur nicht, jedoch veratmen sie die Aminosäuren
einzelne und der Stamm III₁ zeigte darin nur eine sehr geringe
Entwicklung.

den auf die Schwierigkeit der Analyse hin, die hauptsächlich durch den hohen Gehalt an Fremdstoffen bedingt ist.

Auch im vorliegenden Fall war eine Reihe von Vorversuchen notwendig, um eine scharfe und eindeutige Trennung der Aminosäuren zu erhalten. Vor allem bewirkten die braunen, wasser- und Äthanollöslichen Huminsäurefraktionen (Fulvosäuren?) eine Störung der Chromatogramme.

Zur Extraktion der freien Aminosäuren wurde zunächst etwa 1 kg Torf mit 1 Liter warmen Wassers ausgezogen. Zu diesem Zweck verwendeten wir einen Sintraxapparat (SCHOTT & Gen.), in dessen oberem, mit Torf gefüllten Aufsatz die Temperatur maximal 55°C betrug. Nach Filtration des trüben, braunen Extrakts durch ein Faltenfilter konnte eine gelblich-braune, ziemlich klare Lösung erhalten werden. Der braun gefärbte Stoff liess sich durch Ausschütteln mit Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Äther und Butanol nicht aus der wässrigen Phase entfernen. Auch eine Extraktion des Torfs mit Äthanol brachte keine Vorteile. Am wenigsten war die Lösung bei der Extraktion mit kaltem Wasser (Fühlschrank) gefärbt. Deshalb wurde diese Extraktionsmethode bei allen folgenden Untersuchungen verwendet.

Der wässrige Auszug wurde darauf mit einer SILBERD-Heilmittelmaschine aufgearbeitet, als sich keine Unterschiede in der Aminosäuren-Zusammensetzung bemerkbar machten, auch in Trockenschmelze bei 60°C zur Trockene eingedampft. Vorher fiel ein Teil des braunen Stoffes aus und konnte abzentrifugiert werden. Bei dem Eindampfen wurde mit 70%igem Alkohol der Rückstand 5 Stunden lang ausgezogen, da auf diese Weise zwar die Aminosäuren, nicht aber eventuell vorhandene Peptide und ein grosser Teil des braunen Stoffes gelöst wurden.

1. Ermittlung einer geeigneten Methode

Die folgenden orientierenden Versuche hatten den Zweck, die geeignetste Methode für eine möglichst ungestörte und exakte

Auftrennung der Aminosäuren ausfindig zu machen.

a) Eindimensionale Chromatographie

Mit einer Kapillare wurden auf 1/4-Bogen des Chromatographierpapiers 2043b ((Schleicher & Schüll) entlang einer Startlinie im Abstand von 3 cm verschiedene Mengen des alkoholischen Extrakts aufgetragen. Zur Anreicherung des Torfauszuges innerhalb eines möglichst kleinen Startfleckens, trockneten wir während des Auftragens immer wieder mit der Heißluftdüse, bis die entsprechende Menge auf einen Fleck von einmal 4 bis 5 mm Durchmesser konzentriert war. Die Anreicherung konnte nicht beliebig gewählt werden, da bei zu starker Konzentration das Papier infolge Verkrustung mit der braunen Substanz die Flüssigkeit nicht mehr aufsaugen konnte. Hieran wurde in einem Lösungsmittel von wassergesättigtem Ethanol-KCN sowohl aufsteigend als auch absteigend chromatographiert. Dabei zeigte sich, dass sich die braune Substanz nicht auflösen liess und einen Streifen von Start bis zum Front bildete. Nach dem Trocknen der Chromatogramme in einem Luftstrom, wurde mit einer 0,2 %igen Lösung von Ninhydrin in 95 % Ethanol und 5 % 2n-Eisigsäure besprüht und im Trockenschrank auf 110° C erwärmt (URAMER 1954). Der vorher braune Streifen war nun fest einheitlich rotbraun gefärbt. Es liessen sich nur geringe Unterschiede in der Farbintensität erkennen, keinesfalls konnten eindeutige Flecken festgestellt werden.

b) Ringchromatographie

Eine bessere Trennung wurde mittels der Ringchromatographie erreicht. Dazu kam eine Kombination der Methode nach LUTHER-FRISCHER mit der üblichen Methode (ZIMMERMANN und HILKE 1957) vom Physiologisch-Chemischen Institut (Hamburg) zur Anwendung. In einen Viertelbogen des Chromatographierpapiers 2043b wurde ein kreisförmiges Loch von 5 cm Durchmesser ausgeschnitten 6 bis 8 zwei Millimeter breite Bohrer auf 2 cm in symmetrischer Anordnung stehen gelassen. Der Extrakt wurde

de in der Mitte der Zungen in verschiedenen Konzentrationen aufgetragen und das Papier zwischen die Deckel zweier grossen Petrischalen (20 cm Durchmesser) eingeklemmt. Unterhalb des Loches befand sich eine normale Petrischale (8 cm Durchmesser) mit dem Lösungsmittel. Das Chromatogramm wurde im dem Entwickeln 5 Stunden in der gesättigten Atmosphäre des Lösungsmittels belassen und erst dann die Brücken umgebogen und die Zungen in das Lösungsmittel gehängt. Die folgenden Lösungsmittel wurden auf ihre eigene Wirksamkeit untersucht: wasser- gesättigtes Phenol-ECC, Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5), α -Picolin-Eisessig-Wasser (2:1:23), sowie nach PPENNIG mit n-Propanol-Wasser (7:3). Hierbei zeigte sich, dass eine Butanol-Eisessig-Wasser und wasser- gesättigtes Phenol nicht zur Trennung eigneten, da sich die braune Substanz über das Chromatogramm verteilte. Bessere Ergebnisse zeigten sich mit n-Propanol-Wasser und α -Picolin-Eisessig-Wasser, da hier die braune Verbindung an der Lösungsmittelfront lief und sich nur ein kleiner Teil über das Chromatogramm verteilte. Die Laufzeit betrug 6 bis 8 Stunden. Auf diese Weise konnte nach dem Besprühen die Naphthalin- 3 bis 6 Fraktionen bestimmt werden.

c) Durchlaufchromatographie

Nun versuchten wir mithilfe von Durchlaufchromatographie eine einwandfreie Trennung der Aminosäuren zu erhalten. Aus einem 40 cm langen Papierbogen wurden nach SCHNEIDTPRUM 21 cm lange 2 mm breite Klappbänder auf der Startlinie angebracht. Zwischen diesen 1,7 cm breite Brücken entstanden der Abstand von der Mitte einer Brücke zur Mitte der nächsten betrug 4 cm, die Länge der Brücken 2 cm. Das eigentliche Chromatogramm wurde gezeichnet und zwar so, dass das Spalten eines Zahns genau der Brücke gegenüber lag. Nach Auftragen des Extraktes auf die Mitte der Brücken liess das Chromatogramm 2 Stunden lang in den Chromatographiekasten, der die gesättigte Atmosphäre des Lösungsmittels enthielt. Als Lösungsmittel diente α -Picolin-Eisessig-Wasser, da nur dieses

Gemischtes

phierkastens gesättigt werden kann, was mit Propanol-Wasser schlechter zu erreichen ist. Die Laufzeit wurde mit einem Testchromatogramm, das die Aminosäuren Leucin, Phenylalanin, Valin und Prolin enthielt, ermittelt. Diese Aminosäuren besitzen alle einen sehr hohen R_f -Wert, sodass sie bei zu langer Laufzeit bereits mit dem Lösungsmittel abgetropft waren und nicht mehr nachgelesen werden konnten. Als die günstigste Laufzeit bei einem Chromatogramm von 40 cm Länge und einem 1:1-Mischungs-Wasser als Lösungsmittel erwies sich die Zeit von 24 bis 30 Stunden. Der braune Farbstoff tropfte während dieser Zeit fast vollständig mit dem Lösungsmittel ab. Nach dem Trocknen, Besprühen mit Ninhydrin und Erwärmen im Trockenschrank liessen sich deutlich 7 scharf getrennte 7 Ninhydrin-positive Flecken erkennen.

d) Zweidimensionale Chromatographie

Da es aber noch nicht sicher war, ob einige dieser sieben Flecken nicht aus Aminosäuren mit gleichen R_f -Werten stammten, wurde zur zweidimensionalen Chromatographie übergegangen. Hierbei chromatographierte man in der ersten Dimension absteigend und durchlaufend nach der oben beschriebenen Methode mit α -Picolin-Bismessig-Wasser als Lösungsmittel auf einer Probefahne, die nach dem Trocknen abgeschnitten und mit Ninhydrin entwickelt werden war. Nach der Entwicklung wurde das Chromatogramm für die zweite Dimension zugeschnitten (die Brücken und Zähne fielen dadurch weg). In der zweiten Dimension wurde aufsteigend mit Phenol- H_2O und NH_3 als Lösungsmittel chromatographiert, wobei ein gutes, fertiges Phenol von pH 8,5, pH 9,0 und pH 12,0 am besten geeignet war.

Nur auf Grund dieses Verfahrens war eine scharfe Trennung ohne Störung durch die Fremdstoffe möglich. Deshalb, da bei seinen Untersuchungen sich einen solchen Verfahren angeschlossen

Gemalt ist ... freies ... Arbeit ...

2. Die Identifizierung der ...

Zur Bestimmung der ... säureflecker ... eines unter gleichen Bedingungen ... Testchronatogramms ... Die R_F -Werte waren ...

Die auf Grund der R_F Werte vermuteten Aminosäuren wurden als Vergleichssubstanzen ... gelassen.

Bei Substanzen mit ähnlichen R_F -Werten ... Wer der Fleck ... Sensitiv ...

Schließlich wurde ...

3. Ergebnisse

Mit ...

1. ...
2. ...
3. ...
4. ...
5. ...
6. ...
7. ...

Die Flecken von Serin, Glycin und Alanin waren am grössten und zeigten die stärkste Farbindensität. Der als Leucin bezeichnete Fleck färbte sich ebenfalls mit Ninhydrin ziemlich intensiv, doch ist es nicht sicher, ob dabei tatsächlich das Leucin in entsprechender Konzentration vorlag, da sich ein Gemisch aus Leucin, Isoleucin, Norleucin und Thionylalanin mit dem beschriebenen Lösungsmittelpaar nicht trennen lässt und somit alle vier Aminosäuren vorhanden sein könnten. Eine geringere Grösse wiesen die Flecken von Asparaginsäure und Glutaminsäure auf. Die geringste Farbindensität konnte bei Threonin beobachtet werden.

Neben diesen, konnten noch zwei ebenso schwache, Ninhydrin-positive Flecken erkannt werden. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um γ -Aminobuttersäure und Arginin.

Da BREMNER in seiner Arbeit das Fehlen von freien Aminosäuren als Folge des raschen Abbaus durch die Mikroorganismen annimmt, wurde bei unseren Versuchen mit grösster Sorgfalt vorgegangen. Um den Einwand auszuschalten, es könnte sich bei den gefundenen Aminosäuren um Autolyseprodukte von Mikroorganismen handeln, die durch veränderte Kulturbedingungen entstanden seien, wurden die Torfproben bei Zimmertemperatur aufbewahrt, sodass die Enzymaktivität eingeschränkt war. Ausserdem wurden die Flecken möglichst schnell nach der Entnahme aufgearbeitet. Auch eine Hydrolyse durch die eventuelle Extraktion kann nicht in Frage kommen, da dieselben alkalischen bei Extraktion mit Äthanol nachgewiesen wurden. Das Fehlen von freien Aminosäuren in den von ihm untersuchten Effekten führt BREMNER in Übereinstimmung mit QUASTEL und WATKINS auf eine rasche Nitrifikation der Aminosäuren im Boden zurück. Nach E.F. GALE (Advances in Enzymol. 2, 1, 1964) werden aber in sauren Medien (pH-Wert 2,5 bis 3,5) Aminosäure-Decarboxylasen von den Mikroorganismen gebildet. Diese Bildung hängt vom Vorhandensein des spezifischen Enzym-Substrats ab, weshalb die Aminosäure-Decarboxylasen als adaptive Enzyme aufgefasst werden.

In einem Testversuch wurde deshalb untersucht, ob bei Lysin-zusatz (für das eine spezifische Decarboxylase existiert) vorwiegend CO_2 oder vorwiegend ammoniak gebildet wird. Hierzu eignete sich die schon eingangs erwähnte, von H. FISCHER-RIEDER für andere Bestimmungen abgeänderte Methode nach ISERMAYER.

Zu 15 g naturfeuchten Torf wurden 250 mg Lysin zugegeben und einmal die Bildung von CO_2 und einmal die Bildung von NH_3 untersucht. Als Verlage dienten 15 ml $\text{Ba}(\text{OH})_2$ n/10, bzw. 20 ml n/10 H_2SO_4 . Titriert wurde mit n/10 HCl bzw. n/10 NaOH . In der folgenden Tabelle wurden beide Ergebnisse gegenübergestellt:

Tabelle 7

Reihe	mit Lysin ml verbr. $\text{Ba}(\text{OH})_2$	ohne AS- Zusatz ml n/10 NaOH	mit Lysin ml verbr. HCl	ohne AS- Zusatz ml verbr. HCl
I	18,9	18,8	10,0	10,0
II	18,9	18,8	10,0	10,0
III	18,9	18,8	10,0	10,0
IV	18,9	18,8	10,0	10,0
V	18,9	18,8	10,0	10,0
VI	18,9	18,8	10,0	10,0
VII	18,9	18,8	10,0	10,0

1) Naturfeuchte

Daraus ist zu entnehmen, daß in dem naturfeuchten Torf eine oxydative Denitrifizierung stattfindet oder diese in Aussicht ist, daß das entstehende NH_3 sofort in der Umgebung wird. Bei der hohen Konzentration von Lysin, das in der Verlage-Substanz vorhanden war, hätten sich sonst sofort gebildete Ammoniak- oder Ammoniumsalze bilden können. Ob die verminderte CO_2 -Bildung auf einen Verbrauch von Ammoniumcarbonat oder auf den oxydativen Denitrifizierungsprozeß, kann nicht festgestellt werden. Interessant könnte es

Als Chromatographierpapier diente die Sorte 2043b der Fa. SCHLEICHER & SCHÜLL. Die Sorten 201 und 202 der Fa. BINZER eigneten sich ebenfalls sehr gut. Als Lösungsmittel kam wasser das Gemisch n-Picolin-Eisessig-Wasser und Phenol je 1 ml auf 8,3 per Anwendung. Von jeder Torfprobe wurden je zwei Hydrolysate hergestellt und chromatographiert, wobei jeweils 10,06 ml auf die zurechtgeschnittenen Papiere aufgetragen wurden.

Zur Identifizierung der Aminosäuren wurde zunächst das Vergleich mit den Substanzen der Aminosäurenkollektion MURRAY, Serie A und B und mit Aminosäuren der Fa. SCHUCHMANN hergestellt. Zur Lokalisation der Aminosäureflecken wurde das Ninhydrin-Sprühareagens nach LEVY und CHUNG verwendet. Dieses besteht aus einer Lösung von 0,1 g Ninhydrin in 5 ml absolutem Alkohol und 5 ml 2,4,6-Trichloridin. Nach 1/2-stündiger Einwirkung bei 60°C zeigten die Aminosäureflecken sehr gut den charakteristischen Farbumschlag.

Die Bestimmung einiger Ninhydrin-positiven Buchstaben gelang es zu werden mit Spezialreagentien auf einem mit 10% Pyridin-Wasser (1/2) gelaufenen Chromatogramm.

γ-Amino-β-indolylpropion-Natrium (γ-Amino-β-indolylpropion-Natrium) wird bei der sauren Hydrolyse zum größten Teil zerstört. Am besten gelingt es mit NINHYDRIN-Reagens (2 g p-Dinitrophenylhydrazin in 100 ml 20% Essigsäure) nachweisbar zu werden. Das Chromatogramm wurde damit besprüht und bei 60°C getrocknet, worauf die rote Farbreaktion eintrat. Als Vergleichssubstanz diente von Tryptophan MURRAY mitliegend. Die Reaktion, wie Ursubstanzgründel von Arginin, der mit NINHYDRIN-Reagens eine gelbe Färbung zeigt, wurde nicht beobachtet.

γ-Amino-β-p-hydroxyphenylpropion-Natrium (γ-Amino-β-p-hydroxyphenylpropion-Natrium) zeigt mit Ninhydrin eine charakteristische gelbe Färbung. Deshalb wendete ich für den Nachweis das Spezialreagens nach NINHYDRIN an. Die Chromatogramme wurden mit einer Nitrocellulose-

100% von 0,1 % α -Nitroso- β -Naphthol besprüht. Darauf erfolgte die Trocknung in Warmluft und das Besprühen mit 20-facher wässriger Salpetersäure. Nach dem Erhitzen auf 100° C erschien Tyrosin rot auf blassgelbem Grund. Als Kontrollsubstanz diente Tyrosin MERCK. Diese Reaktion ist spezifisch für Tyrosin.

Arginin (α -Amino- γ -Guanidinoverlensäure) als wesentlicher Bestandteil des Zellproteins zeigt ebenso wie Tyrosin eine schwarze Farbreaktion mit Ninhydrin. Bei Behandlung mit α -Naphthol und Na-Hypobromit nach SALZMANN kommt es zu einer Farbreaktion, die charakteristisch für die Guanidingruppe der Arginsäure ist. Zum Nachweis dienten die Spurensensitivität in einer Modifikation nach ACHER:

- a) Eine Lösung von 0,01 % α -Naphthol, 5 % Mercaptoäthanol und 5 % KOH in Äthanol;
b) 0,7 ml Proben in 100 ml 5-facher NaOH-Lösung.

Bei dieser Nachweisreaktion erscheint Arginin rot auf blassgelbem Grund. Als Vergleichssubstanz wurde Arginin MERCK verwendet.

Pyridoxin (Pyridoxal- β -carbonsäure) gibt mit Ninhydrin eine braunrote Farbreaktion. Zur Kontrolle wurde einige Chargen Asparaginsäure mit dem Testreagens nach SALZMANN behandelt. Hierbei erfolgte das Trocknen im heißen Luftstrom, worauf das Chargenprogramm in eine 0,2-fache Lösung von kristallisiertem Iod in Äthanol eingebracht wurde. Nach dem Trocknen bei 100° C erschien Protein sehr schnell blau auf gelbem Grund. Einige Chargen Asparaginsäure zeigten erst nach längerem Erhitzen schwache Farbreaktionen.

Zusammenfassung:

Die Ergebnisse wurden in der folgenden Tabelle 5 zusammengefasst. Mit grosser Regelmässigkeit kamen bei allen untersuchten Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin, Serin, Alanin, Valin und Leucin (bzw. Isoleucin + Homoleucin) vor.

unter anderem auch bei Achromobacter- und Pseudomonasarten gelang. Da aus den drei Versuchsreihen fast ausschließlich Mikrokokken isoliert werden konnten, konnte diese Tatsache im Zusammenhang mit der Fehlbildung von Tryptophan auf den Chromatogrammen dieser Erben stehen. Es kann jedoch daraus nicht auf das völlige Fehlen von Tryptophan geschlossen werden. Immerhin dürfte der mengenmässige Anteil in diesen Erben sehr viel geringer sein als in den drei übrigen Erben. Diese Erklärung würde die Annahme stützen, dass der Indol-säurenanteil im Torf in besonderem Masse von der Zusammensetzung der Mikroflora abhängt, oder auch umgekehrt.

Im übrigen war jedoch die Aminosäurenzusammensetzung ziemlich gleichartig. Die Tabelle 8 (s.S. 46) soll eine grobe Uebersicht der Aminosäurenverteilung auf den Chromatogrammen darstellen. Hierbei wurde nicht die Konzentration, sondern die Grösse und Farbtintensität der Flecken berücksichtigt. Da Alanin in allen Fällen sehr reichlich vorhanden war, wurde ihm der Wert 5 zugeordnet und die Grösse und Farbtintensität der übrigen Aminosäurenflecken im Verhältnis zur Alaninfleck geschätzt. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Benützung der Flecken nicht ganz identisch mit der der Konzentration der betreffenden Aminosäure ist. So wurde auf einem Vergleichschromatogramm, auf dem eine Anzahl von Aminosäuren (MESCCK) in gleicher Konzentration gelaufen waren, festgestellt, dass z.B. der Alaninfleck grösser und intensiver gefärbt war als der von Threonin.

Trotz dieser nur sehr annähernd quantitativen Angaben glauben wir doch, eine Aussage darüber machen zu können, welche Aminosäuren im Torfhydrolysat vorkommen und welche nur in verhältnismässig geringer Konzentration vorhanden sind.

Die Aminosäuren α - ϵ -Blanzinoplistinsäure und γ -Aminobutyronsäure konnten nicht eindeutig nachgewiesen werden, da keine Vergleichssubstanzen zur Verfügung standen. Im Vergleich mit den Angaben von BRENNER, KANDLER und KENNEDY sowie von KILB entsprechen die von uns gefundenen Flecken denen, die KILB

Fig. 2

Chromatogramm der Hydrolyse
von Proteinen (Säure ab 1:2)



1. Asparaginsäure
2. Glutaminsäure
3. Serin
4. Glycin
5. Threonin
6. Alanin
7. Histidin
8. Lysin
9. Arginin
10. Prolin
11. Valin

12. Isoleucin
13. Methionin
14. Tyrosin
15. Tryptophan
16. Glutaminsäure (17)
17. Asparaginsäure (18)
18. G-Alanin
19. o-Phthalimidopropioninsäure (20)
- X, Y, Z unbestimmte Aminosäuren

organisch gebundener Stickstoff im Boden zum grossen Teil als
organisch gebundener Stickstoff vorliegt, da der nichtkultivierte Torf
unauslöslischen anorganischen Bestandteilen ist (was seine
Austauschereigenschaft beweist), war zu vermuten, dass im
Torf der Stickstoff zum grossen Teil als organisch gebundener
Stickstoff vorliegt. Besteht eine gewisse Parallelität
zwischen der Aminosäurenverteilung und dem leicht zu ermit-
telnden Gesamtstickstoffgehalt, so würde das die Vermutung
stützen, dass ein wesentlicher Teil des Gesamtstickstoffs
als Aminostickstoff vorliegt.

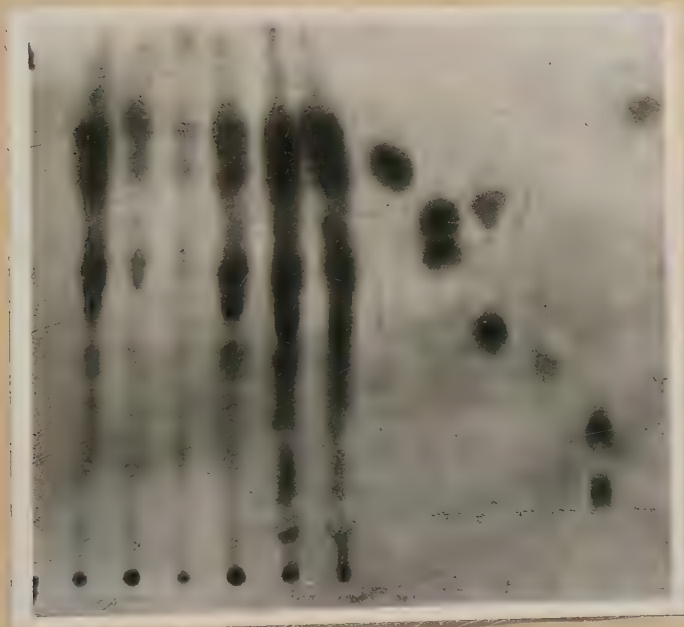
Aus diesem Grunde wurde zuerst nach einer Vorschrift von 1911
mit Hilfe eines Mikro-Kjeldahlverfahrens der Gesamtstickstoff-
gehalt pro Gramm der entsprechenden Torfproben ermittelt. Als
Ausgangssubstanz dienten jeweils 2 g naturfeuchter Torf. Wie
jede Woche wurden 5 Einzelbestimmungen durchgeführt und dar-
aus der Durchschnittswert des Gesamt-N-Gehalts berechnet. Dies
war notwendig, da es sich bei dem Torf um eine wenig homogene
Substanz handelt und somit eine einzige Bestimmung je Probe
wenig Sinn hat.

Tabelle 9

	I	II	III	IV	V	VI
Gesamt- N Gehalt	2,92	2,16	2,09	4,10	7,40	9,90
pro 2 g	3,02	2,10	1,76	3,92	7,47	9,97
	3,38	3,02	1,58	4,90	7,00	6,10
	2,82	2,38	2,24	4,35	7,20	5,90
	3,05	2,52	1,98	4,19	7,40	6,00
Durchschn.- Wert pro g	1,52	1,22	0,96	2,14	3,58	3,00

Um die für den Gesamt-N-Gehalt erhaltenen Werte mit denen
der Aminosäurenverteilung vergleichen zu können, wurden ein-
dimensionale Chromatogramme angefertigt, auf deren Stickstoff-

von jeder Probe jeweils 0,1 ml der 0,01 N-Nachlösung,
quantitativ gemessenen Hydrolysat zugegeben worden. Als
Reaktionsmittel diente Propionyl-Anhydrid (1.5). Wegen der braun-
en Grundfarbe war es nicht möglich die Aminosäuren völlig
zu trennen. Auch schied von diesem Grunde eine photometri-
sche Messung der Aminosäurekonzentration aus.



Auf die eindimensionale Chro-
matographie wurde jedoch des-
halb nicht verzichtet, weil
sie ein sehr anschauliches
Bild liefert und die Hydroly-
sate der einzelnen Proben un-
ter völlig gleichen Bedingun-
gen laufen (s.Fig.3).

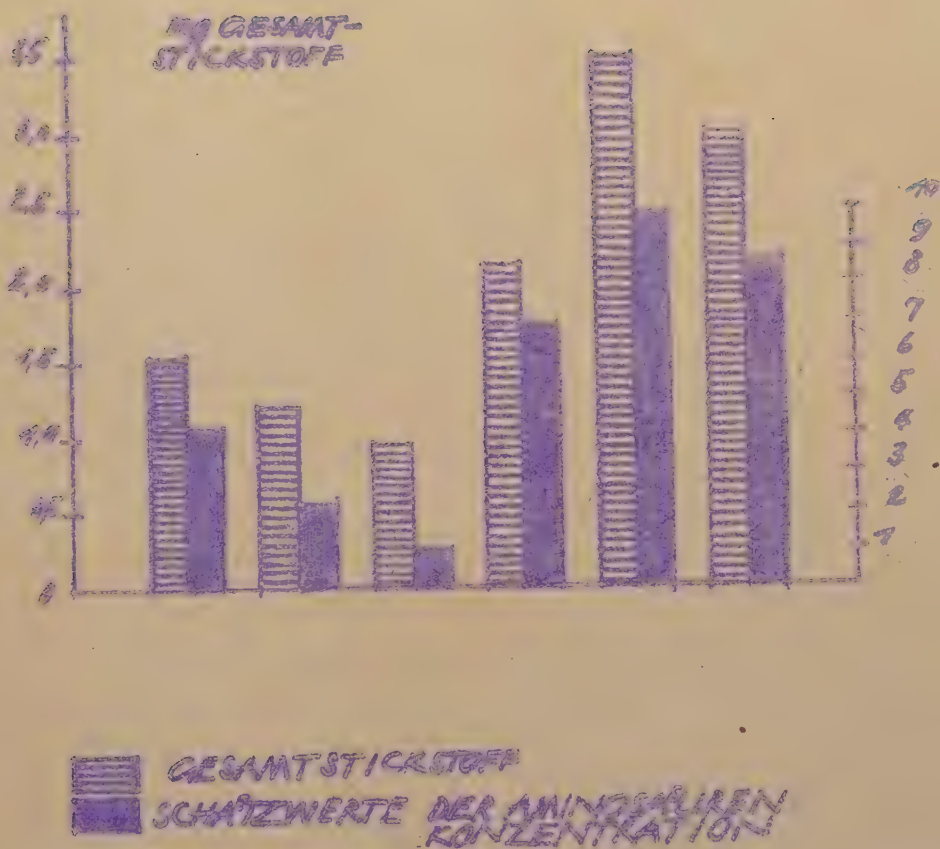
Die Konzentration der Amino-
säuren konnte aus den eben
beschriebenen Gründen nur ge-
schätzt werden. Hierbei wurde
der Bahn mit den geringsten
Fleckengrößen und Farbtinten-
sitäten der Wert 1 und der

der mit den größten und intensivsten Flecken der Wert 10
beigegeben. Die dazwischenliegenden Bahnen wurden danach boni-
tiert.

I II III IV V VI

4 2 1 7 10 8-9

Das Diagramm zeigt eine Reihe von Zahlen, die die quanti-
tative Verteilung wiedergeben. Bei einem Vergleich mit
den Werten der Aminosäurebestimmung lässt sich jedoch
eine gewisse Parallelität nicht verkennen. Dazu vergleiche
man das folgende Diagramm, Figur 4, s.S.52.



Figur 4

In obigem Diagramm werden die Werte des Gesamt-N-Gehalts mit den Schätzwerten der Aminosäurenkonzentration verglichen.

Hydrolyse des Torfs

Da die Torfschichten mit Wasser bei dem Abbau von pflanzlichen Material durch Mikroorganismen gesättigt werden, weisen diese eine beträchtliche Menge an Eiweißsubstanzen mikrobieller Herkunft enthalten. Es ist deshalb nicht überraschend, dass in den Torfhydrolysaten die meisten der häufigsten vorkommenden Aminosäuren aufgefunden werden. Ob diese Aminosäuren tatsächlich aus dem Protein der Mikroorganismen stammen, oder ob sie wenigstens in den oberen Schichten teilweise pflanzlicher Herkunft sind, kann nicht nachgewiesen werden, da z.B. ein Sphagnumhydrolysat in wesentlichen die gleichen Aminosäuren aufweist wie ein Torfhydrolysat oder die Hydrolysat eines *Pseudomonas*-Stammes. Jedoch dürfte es sich wohl - wenn man das hohe Alter der einzelnen Torfschichten in Betracht zieht - vorwiegend um Aminosäuren aus dem bakteriellen Eiweiß handeln.

Wie KAJIWA (1947) und BREMER (1949) nachweisen konnten, liegt ein grosser Teil des organisch gebundenen Stickstoffs als α -Aminostickstoff in Torfen vor. Diese Tatsache lässt sich mit unseren Ergebnissen für den Torf in Einklang bringen, wenn man bedenkt, dass hier ein grosser Teil des Gesamtstickstoffs aus Aminostickstoff vorliegt. Dies erklärt sich aus folgenden Tatsachen: Die (bakterielle) Amine, die unter anaeroben Verhältnissen aus pflanzlichem Material durch eine Fermentation eibildungsfähig werden, können durch Ammonifikation, d.h. durch den mikrobiellen Teil des Gesamtstickstoffs als Hauptbestandteil des Stickstoffs vorliegen.

Da die Werte für den Gesamtstickstoff den berechneten Gehalt der Aminosäuremischungen bei Abzug der als Eiweiß gebundenen Stickstoffe, d.h. mit KAJIWA und BREMER übereinstimmend, angenommen werden, dass ein grosser Teil des im Torf vorhandenen organisch gebundenen Stickstoffs als Amine vorliegt, liegt

Aus diesen Überlegungen ist ersichtlich, dass der Stickstoffgehalt im Torf eine wesentliche Rolle als Stickstoffquelle für

die dort lebenden Mikroorganismen spielen muss. Dabei sind offensichtlich die beiden grundlegenden biologischen Vorgänge, nämlich die Autolyse der Mikroorganismenzellen nach ihrem Tode und der Aufbau von neuem Eiweiß aus den Autolyseprodukten beteiligt.

Eine gewisse Rolle könnte eventuell auch die Bindung von elementarem Luftstickstoff spielen, zumal nach noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von H. POSCHENRIEDER, Th. BRON und R. RÖSCHENTHALER in einigen Mooren *Azotobacter indicum* nachgewiesen werden konnte.

Schematisch können diese beiden Vorgänge in einer Gleichung zusammengefasst werden:



Da in allen Torfproben freie Aminosäuren nachgewiesen werden konnten, gelangten wir zu der Ansicht, dass zwischen diesen beiden Vorgängen ein Gleichgewicht besteht, das je nach Bodenart entweder mehr auf die rechte oder auf die linke Seite der obigen Gleichung verschoben ist. Da im Gegensatz zum Altkarboden im Torf verhältnismässig niedrige Temperaturen (10°C und weniger) vorherrschen und somit auch die Tätigkeit der Mikroorganismen an naturgegebenen Standorten weniger intensiv vor sich geht, reichert sich eine beträchtliche Menge an freien Aminosäuren im Torf an.

Dass die Aminosäuren sogar als alleinige Stickstoff- und Kohlenstoffquelle für die im Torf lebenden Bakterien in Frage kommen, konnte in oben angeführten Versuchen bewiesen werden. Hierbei zeichnen sich die Bakterien der Proben IV, V und VI durch ihre Fähigkeit aus, die meisten der verfügbaren Aminosäuren zu verwerten, aber auch die Bakterien der oberen Proben konnten einzelne Aminosäuren als alleinige Stickstoff- und Kohlenstoffquelle verwerten. Welche Bakterienarten dabei eine Rolle spielen, wurde durch eine systematische Bestimmung der isolierten Stämme aufgezeigt.

ten des Profils wurde parallel mit dem
stoffgehalt verglichen. Dies war eine
mässige Parallelität zwischen beiden.

Literaturverzeichnis

- 1) I. A. GOSCHUTZ u.
F. GOSCHUTZ
Ionenaustausch bei Torfmoosen
(Sphagnum). Flora 141, 178-181,
236 (1954)
- 2) W. BANADE
Mikrobiologie der Moore. 1. Aufl.
Verlag Linz a.D., Frankfurt
a.M., Wien (1954)
- 3) BERGEY'S
Manual of Determinative Bacteri-
ology, sixth Edition (1948)
- 4) I. M. BREMMER.
The amino-acid composition of
the protein material in soil.
Biochem. Journ. 47, 5. 538-542
(1950)
- 5) V. H. BRAMMER.
V. PLATZ u.
E. KÜSTER.
Zur Kenntnis der Huminsäuren.
IX. Mitteilung, Der Gehalt an
Aminosäuren in Streptococcus-
Huminsäuren
Zeitschrift f. Pflanzenernährung,
Düngung und Bodenkunde 71 (1955),
1, 58-63 (1955)
- 6)
Chromatographie unter besonderer
Berücksichtigung der Papierchroma-
tographie. E. MERCK AG, Darm-
stadt
- 7) F. CHAMBERLAIN.
Papierchromatographie, 3. Auflage,
Verlag Chemie Weinheim/Bergstr.
(1954)
- 8) D. J. GREENWOOD and
H. LEECH.
Studies on the decomposition of
amino-acids in soils. I.
Plant and Soil, 7, 253-268 (1956)
- 9) F. FLIEGNER.
Verwertung von Aminosäuren als
gemeinsame C- und N-Quelle durch
bekannte Bodenbakterien sowie ba-
tanischer Beschreibung neu isola-
rierter Betain- und Valinabbauer.
Diss. Math.-Naturw. Fak. d. Univ.
Hamburg (1955)
- 10) A. JAKOB.
Arbeitsmethoden der Mikrobiologie
1. Allgemeine mikrobiologische
Methoden. Verl. Th. Steinkopff,
Dresden und Leipzig (1946)
- 11) G. KANDLER u.
C. ZERNER.
Papierchromatographische Unters-
suchung der Aminosäurezusammens-
etzung verschiedener bakterieller
Hydrolysate. Arch. f. Mikrobiol.
24, 41-43 (1955)

14) H. v. LINSKENS.

Papierchromatographie in der
Analyse. Springer Verlag (1957).

15) H. LUDWIG.

Praktikum der quantitativen
organischen Analyse. Verlag F. W.
Bergmann, München (1959).

16)

Manual of Methods for the Culture
Study of Bacteria. Committee on
Bacteriological Technique of the
Society of American Bacteriolo-
gists, Geneva, NY (1948-1949).

17) S. W. SOUICI.

Die Chemie des Moores. Ferd. Enke
Verlag, Stuttgart.

18) F. THIRBA.

Chromatographische Methoden in der
Protein-Chemie. Springer Verlag
(1954).

S c h l u s s w o r t

Vorliegende Arbeit wurde in Zusammenarbeit mit der Bayerischen Landesanstalt für Tierwirtschaft und Landkultur und dem Botanischen Institute der Universität München durchgeführt.

Dem Direktor der beiden Anstalten, Herrn Professor Dr. L. BRAUNER und Herrn O. B. Dr. L. FRANKEN, danke ich für das der Arbeit entgegengebrachte grosse Interesse.

Für die Anregung und wissenschaftliche Leitung der Arbeit bin ich Herrn Dr. H. HUBER, Leiter der Mikrobiologischen Abteilung der Landesanstalt für Tierwirtschaft und Landkultur, dankbar, auch die notwendigen Mittel für die vorliegende Arbeit zur Verfügung stellte, sowie Herrn Professor Dr. F. WINKLER zu grossem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

geboren am 1. März 1912 in Berlin, Deutschland.
Studium der Biologie an der Universität Berlin.
Im Herbst 1934 in Göttingen (1934) geboren.
Nach vier Jahren Mittelschule war er in die
Schule für Jungen in Paderborn, Bayern, und nach der
Vertreibung, und nach dem Tod des Vaters besuchte er die
Hochschule in Göttingen, wo er 1939 die
prüfung ablegte. Im Winter Semester 1940/41
studierte er sich in der Universität München, und
nach dem Studium der Biologie und Chemie, und nach
der Biologie, Chemie und Physik, und nach der
Biologie und Chemie, und nach der Biologie und Chemie,
er September an die Universität Hamburg, wo er
den Biologie und Chemie und nach der Biologie und Chemie,
als der Biologie der Biologie und Chemie, und nach der
Biologie und Chemie, an die Universität München, und
er im Winter Semester 1945/46 mit der Biologie und Chemie,
erhielt den Herrn Professor Dr. J. KATZ.

